FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1909

THÈSE

N° 93

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le mercredi 22 décembre 1909, à 1 heure

Par M. AYNAUD

Né à Cannes, le 25 décembre 1879
Préparateur à la Faculté
Ancien interne des hôpitaux de Paris

LE GLOBULIN DES MAMMIFÈRES

Travail du Laboratoire du Professeur Lannelongue

Président : M. LANNELONGUE, *professeur.*
Juges : MM. RECLUS, *professeur.*
MAUCLAIRE, } *agrégés.*
OMBRÉDANNE, }

PARIS
G. STEINHEIL, ÉDITEUR
2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1909

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen ..... M. LANDOUZY.

Professeurs ..... MM.

Anatomie	NICOLAS.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale	GAUTIER.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	R. BLANCHARD
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD.
Pathologie médicale	DÉJERINE. BRISSAUD.
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE
Anatomie pathologique	MARIE (PIERRE).
Histologie	PRENANT.
Opérations et appareils	HARTMANN.
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET.
Thérapeutique	GILBERT.
Hygiène	CHANTEMESSE.
Médecine légale	THOINOT
Histoire de la médecine et de la chirurgie	CHAUFFARD.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
Clinique médicale	HAYEM. DIEULAFOY. DEBOVE. LANDOUZY.
Clinique des maladies des enfants	HUTINEL.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	BALLET (GILBERT)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER.
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND.
Clinique chirurgicale	QUENU. RECLUS SEGOND. DELBET.
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires	ALBARRAN.
Clinique d'accouchements	PINARD. BAR. RIBEMONT-DESSAIGNES.
Clinique gynécologique	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON.
Clinique thérapeutique	ROBIN.

Agrégés en exercice.

MM.	MM	MM.	MM.
AUVRAY.	CUNÉO.	LAUNOIS.	NOBECOURT.
BALTHAZARD.	DEMELIN.	LECÈNE.	OMBRÉDANNE.
BEZANÇON.	DESGREZ.	LEGRY.	POTOCKI.
BRANCA.	DUVAL.	LENORMANT.	PROUST.
BRINDEAU.	GOSSET.	LOEPER.	RÉNON.
BROCA (ANDRÉ).	GOUGET.	MACAIGNE.	RICHAUD.
BRUMPT.	JEANNIN.	MAILLARD.	RIEFFEL.
CARNOT.	JEANSELME.	MARION.	SICARD.
CASTAIGNE.	JOUSSET.	MORESTIN.	ZIMMERN.
CLAUDE.	LABBÉ.	MULON.	
COUVELAIRE.	LANGLOIS.	NICLOUX.	

Secrétaire de la Faculté : M. DESTOUCHES.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR LANNELONGUE

SÉNATEUR, MEMBRE DE L'INSTITUT

MON CHER MAITRE

Je tiens à inscrire votre nom à la première page de cet ouvrage qui n'a pu être mené à bien que grâce à la liberté que vous m'avez laissée dans votre laboratoire, et à la libéralité avec laquelle vous m'avez aidé. Je vous prie de vouloir bien agréer l'hommage de mon travail en témoignage de ma profonde reconnaissance.

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CH. ACHARD

MÉDECIN DE L'HÔPITAL NECKER

J'adresse l'expression de ma très vive gratitude pour tous les égards et toutes les attentions dont il n'a cessé de m'entourer.

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ H. VAQUEZ

MÉDECIN DE L'HÔPITAL SAINT-ANTOINE

J'adresse l'expression de toute ma reconnaissance pour la très grande sollicitude dont il a fait preuve à mon égard.

A M. LE PROFESSEUR PRENANT

L'hommage de profond respect.

A MES MAITRES D'INTERNAT

M. le Docteur A. MATHIEU

M. le Docteur A. SOUQUES

M. le Professeur DEJERINE

M. le Professeur THOINOT

A MES PREMIERS MAITRES DANS LES HOPITAUX

Le Dr KLIPPEL, Le Professeur DIEULAFOY,

Le Dr MOSNY

A MES AMIS

Les Docteurs Ch. ESMONET, L. GAILLARD, H. LECÈNE,

M. LOEPER

AVANT-PROPOS

Ce travail représente la première monographie consacrée au *troisième* élément du sang. Malgré son étendue considérable, si on le compare aux quelques pages que consacrent à ce sujet les traités d'hématologie, il n'a nullement la prétention de présenter une étude complète du globulin. Ses visées sont plus modestes. La première, c'est de justifier son titre et de montrer que le globulin existe ; je ne prétends pas avoir découvert le globulin des mammifères — dont l'existence a été mise hors de doute, il y a plus de vingt ans, par les admirables observations sur l'animal vivant de Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch — mais sous les noms de plaquettes, hématoblastes, thrombocytes, on a décrit des objets multiples et variés, qui ont fait depuis perdre de vue l'objet bien précis étudié par les auteurs que je viens de citer. La deuxième, c'est d'apporter une technique permettant d'observer *in vitro* l'élément décrit par Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch, de l'observer à loisir, d'expérimenter sur lui, de le compter, en un mot d'établir pour le globulin des procédés d'investigation analogues à ceux qui sont utilisés pour les autres éléments du sang.

A ceux qui pourraient s'étonner de l'heure tardive à laquelle paraît ce travail, alors que depuis si longtemps de nombreux et importants travaux sont consacrés aux globules rouges ou aux globules blancs, je ferai remarquer que si le globulin a passé inaperçu pour beaucoup d'hématologistes, c'est que pour l'observer, il faut le chercher dans le *sang*, c'est-à-dire dans le liquide qui circule à l'intérieur des vaisseaux, et non pas dans le mélange impur de sang, de lymphe, de suc des tissus, fourni par une plaie cutanée, et que l'on étudie généralement sous le nom de sang.

A ceux qui voudraient répéter mes travaux pour les compléter

ou les critiquer, je demanderai de bien vouloir au préalable comparer les éléments qu'ils considéreraient comme des globulins avec ceux qui sont décrits dans ce travail et dont je dois la très exacte reproduction au talent de mon ami H. Malatesta : j'espère ainsi, que si l'on pourra encore discuter sur l'origine etles fonctions du globulin, sur un point au moins la confusion cessera, et que le terme de globulin s'appliquera à quelque chose de bien précis et de bien délimité.

CHAPITRE I

HISTORIQUE

Le globulin de Donné. — Les Elementar-Bläschen de Zimmermann. — Les Kugel de Max Schultze et les Zerfalls-Körperchen de Riess. — L'observation de W. Osler (1874). — La théorie des hématoblastes de Hayem. — Observation par G. Bizzozero de la plaquette à l'intérieur des vaisseaux chez l'animal vivant (1882). — Les critiques de Schmidt et de Löwit. — Travaux confirmatifs d'Eberth et Schimmelbusch et de Laker.

Discussion sur l'existence, la nature des plaquettes : confusion, sous le même nom, d'éléments différents entre eux et n'ayant rien de commun avec les plaquettes de Bizzozero :

A) 1° *La plaquette, dérivé leucocytaire* : Czermack, Gabritschewsky, Hlava, Helber, Howel, Lilienfeld, Maurel, Neumann, Pouchet, Riess, Schmidt, Schultze, Wright.

B) 2° *La plaquette, dérivé du globule rouge* : Arnold et son école, Bremer, Hirschfeld et Maximow (la théorie du nucléoïde), Boccardi, Determann, Eisen, Gibson, Mosso, Fr. Müller, Pappenheim, Poljakoff, Preisich et Heim, Samele, Schwalbe, Spadaro, Vassale, Weidenreich, Welti, Wlasov.

C) *La plaquette, élément d'origine variable ou multiple* (globule rouge, leucocyte, endothélium) : Buckmaster, Castronuovo et Spirito, Engel, Grawitz.

Application des anticorps à l'étude du globulin (Le Sourd et Pagniez, Cole, Sacerdotti, Chevrel et Roger).

« Il existe, écrit Donné en 1844, trois espèces de particules en suspension dans le sang, roulant avec lui : 1° les globules rouges ou sanguins proprement dits ; 2° les globules blancs ; 3° les globulins. » Il est probable que tous les éléments décrits par Donné ne correspondent pas à l'élément bien défini que nous avons étudié, M. Achard et moi, sous le nom de globulin : il n'en est pas moins vrai que Donné est le premier auteur qui ait signalé

dans le sang la présence d'un troisième élément : il est juste, et conforme aux règles de la nomenclature scientifique, que le troisième élément du sang continue à porter le nom qui lui a été donné par le savant qui l'a découvert. Le terme de globulin me paraît avoir d'autres avantages : il n'implique guère d'autre signification que la taille de l'élément qui est incontestablement le plus petit du sang ; il n'en est pas de même des autres synonymes, qui supposent admises des conceptions embryologiques, physiologiques dont quelques-unes sont contestées (thrombocytes) ou complètement abandonnées (hématoblastes). Le terme de plaquette (Bizzozero) implique une conception morphologique et une homologation à un élément du sang des ovipares qui n'est plus admise aujourd'hui : la plaquette des mammifères et la plaquette des ovipares sont deux éléments totalement différents. De plus, dans ces vingt dernières années, il a été fait un emploi abusif du terme de plaquette à l'étranger, et ce mot désigne à l'heure actuelle des produits de destruction des globules rouges ou des globules blancs qui n'ont rien de commun avec la plaquette de Bizzozero (1). Pour toutes ces raisons, j'adopterai le terme de globulin avec la signification suivante : un élément du sang qui n'est ni un globule rouge ni un globule blanc, sans préjuger autre chose que sa taille inférieure à celle des autres éléments.

Zimmermann en 1846, sous le nom d'*Elementar-Bläschen*, *Elementar-Körperchen*, décrit dans le sang des éléments dont il fait dériver les globules rouges. Virchow en 1860, au nom de la théorie cellulaire, fit une critique sévère de « la singulière hypothèse » de Zimmermann ; Hayem trouve le travail de Zimmer-

(1) M. Ph. Pagniez (Aperçu sur l'état actuel de la question des plaquettes. *Arch. des maladies du cœur, des vaisseaux et du sang*, n° 1, 1909) trouve au terme plaquette l'avantage de correspondre à la terminologie étrangère. La remarque est certainement exacte au point de vue linguistique, mais le lecteur qui aura la patience de lire ce long chapitre d'historique, que j'ai essayé de rendre aussi clair que possible, se demandera à quel objet correspond le terme de plaquette qui n'a, à l'heure actuelle, de sens qu'à condition de le faire suivre du nom de l'auteur qui l'a employé : sans compter que certains auteurs décrivant plusieurs espèces de plaquettes, jusqu'à quatre, il faudrait désigner chacune d'elles par un numéro.

mann plein de confusion. Si l'on veut bien laisser de côté la part d'hypothèses et d'interprétations qu'il peut y avoir dans les travaux de Zimmermann, si l'on ne veut considérer que les faits nouveaux, les observations de Zimmermann méritent l'attention. Zimmermann est le premier auteur qui, dans l'étude histologique du sang, a eu recours aux anti-coagulants : il recevait 500 grammes de sang de cheval dans 500 centimètres cubes de solution de sulfate de magnésie à 6 0/0. Notons qu'il opérait sur du sang provenant d'une saignée, sur le cheval, animal dont le sang coagule très lentement (et c'est précisément cette lenteur de la coagulation qui a déterminé le choix de l'animal d'observation). J'ai répété sur un âne l'observation de Zimmermann et j'ai observé des globulins indiscutables ; ils étaient altérés, mais à peu près autant qu'en employant les techniques des successeurs de Zimmermann. D'ailleurs, la description de Zimmermann, les distinctions qu'il établit avec les granulations graisseuses ou fibrineuses sont suffisamment précises pour ne laisser aucun doute ; ces éléments de 4 à 5 μ, qui se gonflent par l'eau et l'acide acétique, qui ont une grande tendance à se grouper en amas, sont incontestablement des globulins.

M. Schultze (1865) décrit dans le sang normal de petits éléments, *Kugel* qui d'après leur réaction en présence de l'eau, des acides et des alcalis, doivent être considérés comme étant de nature protoplasmique ; ils ont une grande tendance à se fusionner en plaques ; M. Schultze ne les identifie pas aux *Elementar-Bläschen* de Zimmermann qu'il considère comme des produits artificiels. Il émet comme hypothèse vraisemblable l'idée de la formation de ces *Kugel* par destruction des globules blancs.

C'est la première fois que nous trouvons dans l'histoire du globulin l'hypothèse de son origine aux dépens d'un autre élément du sang ; la suite de cet historique va montrer la fortune qu'a eue cette hypothèse.

Riess, en 1872, reprend l'hypothèse de M. Schultze qu'il défendra encore dans des travaux ultérieurs (1873, 1879, 1904). Pour Riess, les globules blancs au cours des anémies, des cachexies, se détruisent par fragmentation et donnent naissance à de petits cor-

puscules qu'il appelle *Zerfallskörperchen* : ces éléments sont, d'après Riess, différents des *Elementar-Bläschen* de Zimmermann, mais correspondent aux *Kugel* de M. Schultze : il les distingue des globules de graisse, des spores. La planche qui accompagne le mémoire de Riess représente quelques éléments qui sont certainement des globulins en voie d'altération.

Je signale simplement les travaux de Laptschinsky, Bettelheim, Nedsvetzki, où il y a eu peut-être confusion avec des microbes.

Vulpian en 1873, dans une remarque à une communication de Ranvier à la Société de Biologie, décrit dans le sang des corpuscules incolores, adhérents au verre et ayant tendance à se fusionner en plaques qui sont certainement des globulins.

Ranvier, étudiant la coagulation du sang chez les mammifères, fait remarquer que les granulations qui servent de centre au réseau fibrineux ont des affinités tinctoriales différentes des leucocytes et des hématies : il est probable pour lui, sinon démontré, que ces masses sont de la fibrine, et qu'elles déterminent la coagulation du sang comme le cristal d'un sel amène la cristallisation de la solution saturée de ce sel. Dans son traité technique (1889), il ne décrit pas d'autres éléments figurés du sang que les globules rouges et les globules blancs.

W. Osler (1874) a bien vu que dans les préparations de sang frais, entre lame et lamelle, il y avait des masses granuleuses qui correspondaient aux *Körnchenhaufen* de M. Schultze. Il remarque très judicieusement que ces masses sont trop volumineuses pour traverser les capillaires, qu'elles ne représentent donc pas un élément préformé. W. Osler examine au microscope des veinules du tissu sous-cutané de jeunes rats qu'il vient de sacrifier. Il voit — et la figure qui accompagne son mémoire est des plus démonstratives — que dans le sang, à l'intérieur du vaisseau, il n'y a pas de masses granuleuses, mais des éléments isolés qui se réunissent entre eux lorsque le sang est extrait du vaisseau. Quelques années plus tard, Bizzozero complétera et confirmera l'observation d'Osler en observant ses plaquettes chez l'animal vivant.

Hayem en 1878 publie dans les *Archives de Physiologie* son

mémoire initial sur les *hématoblastes* : dans les années suivantes une série de notes et de communications achève l'exposé de cette conception hématologique, dont on trouve l'exposé complet dans l'ouvrage de cet auteur sur le sang (1889). Pour Hayem « il existe dans le sang de tous les vertébrés de petits éléments qui ne sont ni des hématies, ni des globules blancs ». Il ne s'agit pourtant pas, à proprement parler, d'un élément indépendant, « mais bien d'un globule rouge n'ayant pas dépassé une certaine phase de son évolution ».

Etudions d'abord la morphologie de cet élément. L'observation en est difficile. L'hématoblaste s'altère dès qu'il est sorti du vaisseau : pour l'observer avec une certaine facilité, il faut l'observer à la température de 0°, en hiver, dans la cour de l'hôpital ! A la température ordinaire les hématoblastes se déforment, adhèrent au verre, adhèrent entre eux, forment des masses dans lesquelles ils sont réunis par une substance visqueuse qu'ils laissent exsuder. Hayem fait de cette altérabilité une des caractéristiques de cet élément.

Les hématoblastes de Hayem sont légèrement discoïdes : d'autres en assez grand nombre sont sub-globuleux, arrondis, allongés et portant un pédicule plus ou moins long ou des crénelures sur leur bord. « *Ils ont un aspect colloïde ou légèrement vitreux et parfois une teinte jaunâtre ou verdâtre sensible.* »

Etudiant leur structure, Hayem leur trouve la plus grande analogie avec la structure du globule rouge : pas de noyau, mais une granulation centrale ou presque centrale faisant saillie à la manière de celle des globules rouges. L'hématoblaste a deux fonctions principales : c'est un agent coagulant, « *le sang porte dans son sein un hémostatique puissant* » (*C. R. Ac. des Sciences*, 3 juillet 1882) ; c'est un agent de rénovation sanguine. Hayem le voit augmenter de nombre après la saignée, au cours de la régénération sanguine qui suit les maladies aiguës, et il décrit des stades intermédiaires entre le globule rouge et l'hématoblaste. Quant à l'hématie nucléée, elle ne joue un rôle que dans l'hématopoièse fœtale. A la théorie uniciste de l'hématopoièse qui venait d'être formulée par Neumann, Hayem oppose une théorie dua-

liste : hématopoièse par l'hématie nucléée chez l'embryon, hématopoièse par l'hématoblaste chez l'adulte.

Telle est brièvement exposée la doctrine de l'hématoblaste des mammifères. Chez les ovipares, dont les globules rouges sont nucléés d'une manière permanente, les hématoblastes sont nucléés : l'hématoblaste des ovipares est une cellule parfaite ; l'hématoblaste des ovipares joue le même rôle dans la coagulation et la rénovation sanguine que chez les mammifères.

Au cours de ce chapitre qui est avant tout un chapitre d'historique, je n'ai pas l'intention de faire la critique successive de toutes les théories sur l'origine et la signification du troisième élément du sang : je me bornerai simplement, pour permettre au lecteur de se reconnaître dans des descriptions souvent contradictoires, à indiquer brièvement en quoi les éléments décrits par les auteurs diffèrent des globulins, s'il s'agit de globulins altérés, de produits artificiels ou de produits de destruction et de coagulation.

Une partie des hématoblastes de Hayem correspond à des globulins altérés par le contact des tissus : ce sont les hémotoblastes incolores ; quant aux hémoblastes colorés avec une teinte jaunâtre ou verdâtre, aux formes de transition avec les globules rouges, je ne les ai jamais vus et je ne puis me prononcer sur leur nature ni sur leur signification ; une seule chose est certaine ; ils n'ont rien de commun avec les globulins ; quant aux hématoblastes nucléés des ovipares, ils correspondent soit à des leucocytes, soit à de jeunes globules rouges, mais rien n'autorise à en faire un élément spécial.

Pouchet, dans quelques brèves communications à la Société de Biologie, confirma une partie des observations de Hayem ; il vit, lui aussi, l'augmentation des hématoblastes chez l'animal saigné. Il signale des hématoblastes dans le sang du cordon chez l'embryon de mouton et de lapin. Relativement à leur origine, il se rallie finalement aux idées de Ranvier ; au début, il faisait des hématoblastes une émanation des globules blancs, quelque chose d'analogue par rapport aux globules blancs à ce qu'est le globule polaire par rapport à l'ovule.

Neumann (1881) s'éleva contre la théorie de Hayem. Dans un mémoire devenu classique sur le rôle de la moelle osseuse comme organe hématopoiétique, il reproche à Hayem de méconnaître l'hématie nucléée : il attribue à des préparations mal faites, à des stromas hémolysés, les formes de passage entre les globules rouges et l'hématoblaste. Quant aux hématoblastes eux-mêmes, il a tendance à en faire, avec Riess, des débris de globules blancs.

Peu après les travaux de Hayem, Bizzozero publie (1882) son important travail « *sur un nouvel élément morphologique du sang et de son importance sur la thrombose et la coagulation* », travail qui suscita une vive opposition de la part des élèves de Schmidt et de Löwit. Bizzozero affirme qu'il y a dans le sang *circulant* un troisième élément, absolument indépendant des leucocytes et des hématies, qui n'est ni un fragment de leucocyte ni un jeune globule rouge : c'est la *piastrina*, la plaquette.

L'observation de Bizzozero a la valeur démonstrative de toutes les observations simples : il examine la circulation mésentérique de petits mammifères anesthésiés et il aperçoit et figure à travers les globules rouges un élément incolore, plus petit que les hématies qu'il représente sous forme de petites plaques : ovoïdes de face, en forme de fuseau lorsqu'elles sont vues de profil.

L'observation de Bizzozero si simple, puisque le travail de l'observateur semble réduit à néant, est en réalité des plus difficiles et il faut l'avoir répétée pour rendre complètement justice au savant italien.

On aurait pu croire après, les constatations de Bizzozero, la question du troisième élément du sang définitivement solutionnée et au-dessus de toute controverse ; en réalité il n'en a rien été et le travail de Bizzozero a été le point de départ d'une série de travaux contradictoires qui ont abouti à la négation de l'indépendance et de l'existence même de la plaquette. La raison me paraît en être la suivante : les observations absolument inattaquables faites par Bizzozero *in vivo*, sur l'animal vivant, sont en réalité très difficiles ; les constatations que l'on peut faire sur un pareil objet sont de plus, on le conçoit facilement, des plus limi-

tées : on ne peut pas, à l'intérieur d'un vaisseau, la circulation poursuivant son cours, examiner une plaquette sur toutes ses faces ; on ne fait que l'entrevoir ; de plus, on ne peut pas essayer l'action des différents réactifs physico-chimiques pour en établir la nature : les observations de Bizzozero *in vitro* n'arrivaient guère qu'à mettre en évidence l'extraordinaire altérabilité de cet élément sans en donner la cause, sans fournir une technique qui permît de retrouver chez tous les sujets et à tous les instants, un élément avec des caractères constants, toujours identique à lui-même. De plus, Bizzozero n'avait pas décrit de noyau à sa plaquette ; il ne s'était pas prononcé sur sa nature ni sur son origine. Aussi les auteurs qui ont suivi et qui se sont bornés à faire des observations *in vitro* ont été désorientés par les aspects multiples de la plaquette observée dans ces conditions ; dans bien des cas, ils n'en ont point constaté la présence, ou bien encore ils ont décrit sous le nom de plaquettes des éléments totalement différents de celui qui existe dans les vaisseaux ; l'observation capitale de Bizzozero a été négligée et à l'heure actuelle le troisième élément du sang n'est point encore admis dans les traités classiques d'hématologie.

Bizzozero chercha chez les ovipares l'homologue de la plaquette et il décrivit une plaquette nucléée analogue à l'hématoblaste nucléé de Hayem, et dont l'individualité ne s'est pas davantage imposée. Enfin il s'est prononcé nettement pour l'intervention des plaquettes dans la coagulation du sang. Sur ce point, ses idées étaient en désaccord avec celles défendues par Schmidt : d'après cet auteur le fibrin-ferment était mis en liberté par la destruction des leucocytes au cours de la coagulation.

L'école de Schmidt avec Slevogt et Feiertag fit une vive opposition à la conception de Bizzozero sur le rôle des plaquettes dans la coagulation et mit en discussion leur existence même.

Slevogt, dans le sang de cheval obtenu par saignée de la jugulaire, décrit, entre les piles de globules rouges, les éléments suivants :

1° Les leucocytes et les *Körner-Kugel* de Semmer (1).

(1) On admet généralement que les Körner-Kugel de Semmer correspondent

2° Les *Körnermassen*, amas d'éléments plus petits, les *Körner* : les *Körner* sont de petits corpuscules arrondis,à bords nets, incolores, adhérents au verre. Les *Körnermassen* proviennent de la destruction des *Körner-Kugel*.

3° Les *Körnchenhaufen*, amas de petits éléments irréguliers, polymorphes, de teinte jaunâtre, provenant de la destruction intra-vasculaire des leucocytes.

Feiertag, un autre élève de Schmidt, arrive à des conclusions analogues.

En nous servant d'un objet d'études très voisin, le sang de la jugulaire de l'âne, nous sommes arrivés, M. Achard et moi, à des résultats complètement différents de ceux de l'école de Schmidt : je reviendrai ultérieurement sur ce point et j'expliquerai les raisons de ces résultats différents.

Hlava prend parti pour l'école de Schmidt et admet l'origine leucocytaire des plaquettes.

Weigert discute l'expérience de Bizzozero sur l'observation des plaquettes dans les vaisseaux mésentériques : il incrimine une lésion du vaisseau, une compression, des troubles circulatoires, l'influence de l'anesthésie comme pouvant produire des altérations. Bizzozero répond à ces objections par l'observation de la circulation de l'aile de la chauve-souris, sur l'animal vivant, sans anesthésie.

Wooldridge, dans ses études sur la coagulation, observe dans des sangs incoagulables, sang de peptone en particulier, après refroidissement, un précipité qu'il appelle A. fibrinogène, qui n'a pas de structure histologique. Wooldridge, qui assimile ce

à des leucocytes éosinophiles : on sait que les grains de ces Körner-Kugel ont d'après Semmer une teinte rouge, hémoglotique et Jolly suppose que cette coloration est due à une teinture des grains éosinophiles par de l'hémoglotine diffusée: Schmidt et Semmer opéraient à basse température. Sur le sang d'âne refroidi, j'ai maintes fois constaté la formation sur les globules rouges de bourgeons arrondis, très nombreux, donnant à l'élément un aspect mûriforme parfait. Quelle que soit l'explication que l'on admette, peut-être même les deux sont-elles valables, le point indiscutable à retenir, c'est que la cellule de Semmer est un élément altéré.

précipité aux plaquettes de Bizzozero, se refuse à en faire un élément du sang. Il est difficile de se prononcer sur la nature des plaquettes de Wooldridge : il est fort possible qu'elles représentent un précipité, les vraies plaquettes disparaissant temporairement après injection de peptone.

Löwit est sans conteste l'auteur qui a fait le plus d'opposition aux idées de Bizzozero. Je citerai seulement quelques-uns de ses nombreux travaux qui n'infirment en rien les constatations de Bizzozero sur la préexistence des plaquettes.

Löwit, n'ayant pu dans une expérience de circulation vitale observer des plaquettes, renonce à cette méthode et répond à Bizzozero par des observations négatives, faites avec des techniques différentes. Löwit admet avec Wooldridge que les plaquettes sont un précipité de globuline, *Globulin-Plättchen*, et il se propose d'observer du sang dépourvu de plaquettes. Il examine son propre sang recueilli par piqûre du doigt dans de l'huile et, malgré une technique extrêmement minutieuse, arrive à des résultats négatifs.

Au début de mes recherches, sans connaître le travail de Löwit, je me suis servi — et je continue à m'en servir — de lamelles huilées : j'ai pu observer ainsi — et dès le début de l'observation — des globulins avec les caractères qu'ils ont dans les vaisseaux de l'animal vivant, mais au lieu de recueillir le sang au niveau d'une plaie cutanée, j'ai eu soin de le recueillir à l'intérieur d'un gros vaisseau, à l'abri, autant que cela peut se faire, du contact des tissus.

Löwit reçoit encore du sang dans de l'eau salée à 20 0/0 et n'observe pas de plaquettes : dans ces conditions, Bizzozero en a observé d'altérées ; mes observations sont d'accord avec celles de Bizzozero.

Löwit n'a pas vu de plaquettes au début de l'observation dans le sang traité par l'extrait de sangsues : il ne les a vues apparaître qu'au bout d'un certain temps à la façon d'un précipité ; sur ce point, mes observations sont en contradiction avec Löwit (1).

(1) Dans un travail récent (1907) Löwit admet qu'une partie des plaquettes

J. L. Gibson (1886) pense que sous le nom de plaquette ou d'hématoblaste, on confond deux éléments différents :

1° Des microcytes colorés, débris de globules rouges, correspondant aux hématoblastes de Hayem.

2° Des microcytes incolores, qu'il assimile aux plaquettes de Bizzozero. Ces microcytes incolores sont pour lui des dérivés de noyau, en particulier du noyau des hématies nucléées.

Eberth et Schimmelbusch, Laker (1885-1889), par l'observation directe des vaisseaux de l'animal vivant, confirment les observations de Bizzozero et les précisent sur certains points.

C. Laker répète l'observation de Bizzozero sur l'aile de la chauve-souris. Il décrit les plaquettes comme absolument et toujours incolores : elles ont en moyenne 1/3 du diamètre des globules rouges, elles sont quelquefois rondes, le plus souvent ovales, parfois en forme de bâtonnet. Suivant les variations de position, il aurait vu se succéder les trois formes sur le même élément. Il n'y a aucun doute pour lui que les plaquettes ne soient un élément préexistant du sang.

Eberth et Schimmelbusch ont fait un grand nombre d'observations de circulation dans les vaisseaux mésentériques de petits mammifères. Ils y ont constaté la préexistence des plaquettes de Bizzozero et ont précisé la disposition de ces dernières par rapport aux autres éléments. Lorsque la circulation est rapide, au centre du vaisseau roulent les globules : à la périphérie il n'y a que du plasma. Si une cause quelconque vient ralentir la circulation, les plaquettes et les leucocytes sortent de la région axiale et se disposent dans la zone de plasma périphérique.

Ils décrivent les plaquettes comme des disques arrondis lorsqu'on les voit par la face, ayant une forme ovale lorsqu'on les voit de profil : sans discuter ici la forme réelle des globulins, je ferai remarquer que les figures d'Eberth et de Schimmelbusch représentent des éléments extrêmement allongés, de véritables bâtonnets.

dérive de l'*Innenkörper* des globules rouges : C'est une théorie analogue à celle de Maximow, Hirschfeld (théorie du *nucléoïde*) et qui relève des mêmes critiques.

Eberth et Schimmelbusch décrivent d'une manière fort exacte l'altérabilité des plaquettes extraites des vaisseaux : ils signalent l'apparition d'une substance granuleuse à leur intérieur, de fins prolongements à leur périphérie, leur fusion en plaques granuleuses. Ils ne leur ont jamais vu de noyau.

Eberth et Schimmelbusch font remarquer qu'en examinant rapidement entre lame et lamelle du sang extrait de l'organisme, on peut apercevoir les plaquettes avant toute altération ou fragmentation des autres éléments du sang : ils n'ont pas vu dans le sang d'animaux intoxiqués par l'acide pyrogallique, la toluylendiamine,de développement des plaquettes aux dépens des globules rouges et les considèrent comme des éléments indépendants.

Eberth et Schimmelbusch signalent les altérations et les modifications des plaquettes dans la coagulation; mais tandis que Bizzozero pense que l'altération des plaquettes détermine la coagulation, Eberth et Schimmelbusch considèrent les deux phénomènes comme simplement parallèles et indépendants.

Ces auteurs décrivent chez les ovipares des éléments nucléés, *Spindeln*, qui subissent les mêmes altérations que les plaquettes pendant la coagulation, et qui correspondent aux hématoblastes nucléés de Hayem, aux plaquettes nucléées de Bizzozero.

Le travail d'Eberth et Schimmelbusch marque une date importante dans l'histoire du troisième élément du sang : c'est la confirmation de la découverte de Bizzozero, et tous les résultats que peut donner l'observation vitale y sont exposés. Après eux l'histoire du globulin va rentrer dans la confusion ; certains auteurs nient son existence, d'autres en font un dérivé des autres éléments ou un produit artificiel. Les espèces de plaquettes vont se multipliant : plaquettes à noyau, plaquettes colorées, plaquettes incolores ; les unes prenant le rouge, d'autres le bleu par la même méthode de coloration à l'éosine-bleu : le terme de plaquette va avoir une signification spéciale pour chaque auteur et souvent le même auteur décrira plusieurs espèces de plaquettes, jusqu'à quatre.

Howell (1890-1891) admet l'origine leucocytaire. Les leucocytes du sang proviennent de ceux de la lymphe par accroisse-

ment de la taille et modifications du noyau qui devient polylobé ; arrivé au stade complet de son développement, le leucocyte se détruit dans le sang ; le plasma représente en partie le produit de cette destruction des leucocytes ; quant aux plaquettes, qui se colorent par le vert de méthyle, elles sont le produit de la fragmentation des noyaux des leucocytes polylobés. Je discuterai dans un autre chapitre les théories qui rattachent les plaquettes aux leucocytes : je ferai simplement remarquer que je n'ai jamais vu, d'accord sur ce point avec nombre d'auteurs, un globulin se colorer par le vert de méthyle : les éléments décrits par Howell représentent probablement des fragments nucléaires, mais n'ont rien de commun avec les globulins.

Gabritschewski (1891) n'admet pas les idées de Hayem au sujet de la rénovation du sang par les hématoblastes : cet auteur n'a jamais vu de plaquettes contenant de l'hémoglobine,et il tend à en faire des débris leucocytaires.

I. Salvioli décrit au cours des brûlures expérimentales la précipitation des plaquettes en amas, mais il n'a pas vu, contrairement à Welti,les plaquettes se développer aux dépens des hématies chez les animaux soumis à des brûlures expérimentales.

Muir (1891) observe les plaquettes dans le sang frais : il note leur altérabilité, leur tendance à former des amas. Etudiant leurs affinités colorantes sur des lames desséchées, il fait remarquer qu'elles sont différentes, et de celles des hématies et de celles des leucocytes, noyau et protoplasma.

Lilienfeld (1892),se basant sur des réactions chimiques, admet que les plaquettes contiennent de la nucléine, et les fait dériver des noyaux leucocytaires : il infirme donc les idées de Löwit qui les croyait constituées par de la globuline,*Globulin-Plättchen*, et propose de les appeler *Nuclein-Plättchen*.

Maurel (1893) soutient une opinion analogue : observant du sang à la température de 30 à 36°, il aurait vu le développement de plaquettes aux dépens du noyau des globules blancs.

Lavdovsky (1893) introduit une hypothèse nouvelle dans la description du globule rouge, c'est celle du nucléoïde : nous allons voir par la suite un grand nombre d'auteurs assimiler et

confondre plaquette et nucléoïde. Lavdovsky n'admet pas l'homologie des nucléoïdes et des plaquettes. Il fait agir sur du sang frais, soit de l'acide iodique à 2 0/0, soit un mélange de sublimé et d'acide iodique : il colore par le violet de méthyle, le bleu victoria ; dans ces conditions un grand nombre de globules se détruisent ; mais sur un certain nombre apparaît le nucléoïde, sous forme d'une tache, dans la région centrale du globule,se différenciant par la coloration de la partie périphérique. Lavdovsky, se basant sur des réactions différentes du nucléoïde et de la plaquette, n'admet pas leur homologie et fait de la plaquette un élément indépendant.

Sacerdotti (1893) confirme les observations de Bizzozero et répond aux critiques de Löwit et de Mosso. Comme Bizzozero, il a vu les plaquettes à l'intérieur des vaisseaux chez l'animal vivant : il les considère comme étant de forme elliptique biconvexe. A l'objection de Löwit que les plaquettes ne peuvent résister à une température de 40° et par conséquent ne préexistent pas dans le sang des mammifères, il répond que Schimmelbusch les a observées chez des mammifères vivants, c'est-à-dire à une température de 40°. En faisant digérer du sang par un suc gastrique artificiel, il a bien observé la destruction des globules rouges, mais ces derniers disparaissent sans laisser de vestiges et ne se transforment pas en plaquettes.

Czermack (1893),étudiant sur des coupes l'appareil lymphoïde de l'intestin, croit pouvoir établir une relation entre les tingiblekörpers et les plaquettes. D'après cet auteur, les tingiblekörpers sont produits par la gemmation des noyaux des cellules du centre folliculaire : en perdant leur chromatine, les tingiblekörpers se transformeraient en plaquettes : les plaquettes sont aux tingiblekörpers ce que l'hématie définitive est à l'hématie nucléée.

Czermack est le seul à professer une telle opinion sur l'origine des plaquettes : il est évident que ce qu'il décrit sous le nom de plaquettes est quelque chose de tout à fait différent de la plaquette de Bizzozero.

Mosen (1893) introduit une technique nouvelle : il reçoit le

sang d'une artère dans une solution physiologique de chlorure de sodium contenant 0,2 0 0 d'oxalate de soude ; au bout de 2 à 7 heures de centrifugation, il peut isoler les plaquettes en grande quantité.

Au point de vue histologique, les éléments qu'il représente sont extrêmement altérés : irréguliers, étalés, avec des prolongements granuleux. Mosen y distingue deux substances : une substance homogène et une substance granuleuse ; comme nous le verrons, l'apparition de substance granuleuse à l'intérieur des globulins est un signe d'altération très avancée. D'après Mosen, les plaquettes se composeraient de substance protoplasmique et de substance nucléaire,et cette structure hétérogène montre bien qu'il ne peut s'agir d'un précipité.

Mosen n'a jamais vu de plaquettes dans la lymphe.

Il fait remarquer, et c'est là un point important, que dans le sang examiné par son procédé, leucocytes et hématies sont intacts. Il voit trois hypothèses possibles sur l'origine des plaquettes : globules blancs, globules rouges, endothéliums vasculaires.

Engel dans le sang des embryons décrit le développement des plaquettes aux dépens du noyau des hématies nucléées et des leucocytes. Plus tard (1906),il parle seulement de leur origine aux dépens du noyau des normoblastes. Les plaquettes sont fonction de la dénucléation des hématies : tant que les hématies sont nucléées il n'y a pas de plaquettes ; celles-ci sont contemporaines dans leur apparition des premiers globules rouges sans noyau. Les plaquettes de Engel représentent probablement des noyaux de normoblastes, libérés de leur enveloppe protoplasmique, mais n'ont de commun que le nom avec la plaquette genre Bizzozero.

Wlasov (1894) fait dériver ce qu'il décrit sous le nom de plaquette des globules rouges : il étudie le sang dans des caillots qu'il coupe après fixation au sublimé et coloration au violet de gentiane. Wlasov admet que la destruction des globules rouges produit les plaquettes et détermine la coagulation ; ses plaquettes se colorent par le violet de gentiane.

Bremer (1894-1895) admet l'origine des plaquettes aux dépens

des globules rouges,et nie formellement qu'elles représentent un troisième élément du sang. Après fixation par la chaleur et coloration à l'éosine-bleu, il a vu dans certains sangs le centre du globule occupé par un corpuscule coloré en bleu et qui correspondrait au stade endo-globulaire de la plaquette.

Les plaquettes endo-globulaires de Bremer rentrent dans la catégorie des nucléoïdes.J. Jolly,dans son récent travail sur la formation des globules rouges des mammifères, a fait la critique de la théorie du nucléoïde de Bremer et d'un certain nombre d'auteurs qui ont admis l'existence à l'intérieur des hématies de formations figurées plus ou moins analogues (Maximow, Hirschfeld): il considère tous ces nucléoïdes comme des artifices de préparation ne correspondant à aucune réalité. De mon côté, avec les mêmes techniques ou des techniques différentes, sur les objets d'études les plus variés, j'ai cherché en vain à constater la réalité du nucléoïde que je considère comme une image entièrement artificielle.

Arnold, dans une série de publications sur la coagulation intra et extra-vasculaire, s'est occupé de la genèse et de la signification des plaquettes.

Ce qu'Arnold décrit sous le nom de plaquettes est profondément différent des plaquettes de Bizzozero : il suffit d'examiner les figures d'Arnold pour s'en rendre compte;les conditions d'observations d'Arnold expliquent facilement la différence d'aspect de ces deux sortes de plaquettes. Arnold étudie des caillots intra et extra-vasculaires : il recueille du sang cutané dans de la moelle de sureau et l'examine au bout de plusieurs heures, conditions vraiment défectueuses pour étudier un élément aussi fragile que la plaquette de Bizzozero extraite des vaisseaux. Dans les conditions où il s'est placé, Arnold n'a pas vu la vraie plaquette, mais il a observé des altérations des globules rouges par « *plasmoschisis et plasmorrhexys* », une fragmentation globulaire,et ce sont ces fragments globulaires qui apparaissent dans le sang extrait depuis plusieurs heures, qui peuvent contenir de l'hémoglobine, qu'il considère comme des plaquettes. Ajoutons que pour Arnold, les globules rouges jouent un rôle important dans la coagulation.

Les idées d'Arnold ont été reprises et développées par de nombreux auteurs.

Fr. Muller (1895) fait coaguler du sang dans la chambre antérieure de l'œil, c'est-à-dire au contact des tissus et par conséquent dans des conditions qui impliquent la destruction immédiate des globulins. Muller décrit la formation de plaquettes aux dépens des globules rouges, par excrétion ou séparation ; il admet cependant qu'un petit nombre de plaquettes sont d'origine leucocytaire. D'après cet auteur, il existerait donc deux sortes de plaquettes.

Feldbausch étudie l'action de différentes substances sur le sang *in vitro* (iodure de potassium, chlorure de sodium, peptone, extrait de sangsues, bleu de méthylène, violet de méthyle) : il admet la formation des plaquettes aux dépens des globules, et comme Arnold il leur fait jouer, un rôle important dans la coagulation.

E. Schwalbe et Solley, au cours de l'intoxication par la toluylendiamine, décrivent la formation des plaquettes aux dépens de globules rouges granuleux.

R. Pol, dans une thèse inspirée par Schwalbe, soutient la même théorie d'après des constatations faites au cours d'autres intoxications (sulfure de carbone, phénylhydrazine).

E. Schwalbe, dans différents mémoires ou travaux d'ensemble, développe les idées d'Arnold sur la genèse des plaquettes aux dépens des globules rouges : il étudie surtout des caillots. Cet auteur admet quatre espèces de plaquettes :

A. — Avec hémoglobine :
  a) Avec corps interne.
  b) Sans corps interne.

B — Sans hémoglobine :
  a) Avec corps interne.
  b) Sans corps interne.

Determann (1898), tout en admettant la préexistence des plaquettes dans le sang, les fait dériver des globules rouges. Comme Arnold, il a vu leur développement aux dépens des globules rou-

ges : dans du sang conservé à 37° *in vitro*, il décrit la formation de bourgeons plus ou moins pédiculés à la surface des globules ; ces bourgeons en se séparant du globule constitueraient les plaquettes. *In vitro*, il se forme d'autant plus de plaquettes qu'il y en avait davantage dans le sang observé immédiatement après la prise : la plus ou moins grande facilité avec laquelle se forment les plaquettes serait un moyen d'apprécier la résistance globulaire.

Tels sont brièvement exposés les travaux de l'école d'Arnold ; on voit à quelle complexité est arrivée la question des plaquettes, et que ce terme qui s'appliquait à un élément bien individualisé, extrêmement fragile (sens Bizzozero),s'applique maintenant à des éléments polymorphes,extraordinairement résistants, puisque les auteurs qui les décrivent ont pu les observer durant des heures ou des journées dans le sang conservé *in vitro*.

Eisen (1898) expose sur les plaquettes des vues nouvelles : il étudie dans le sang d'un batracien de Californie, le *batrachoseps attenuatus*. Sous le nom de plasmocyte (plaquette) il décrit des éléments qui seraient fournis par l'expulsion des centrosomes des cellules fusiformes. Ces éléments, auxquels il décrit six couches différentes, se colorent par l'hématéine-éosine et le bleu de toluidine ; chez l'homme il y aurait des éléments analogues. Les caractères des plasmocytes de Eisen les différencient profondément des globulins ; je n'insisterai donc pas davantage.

A. Maximow (1899) décrit et représente la formation des plaquettes aux dépens des globules rouges. Sur des lames de sang fixées par la chaleur à 120°, il observe au centre du globule une zone violacée, le nucléoïde ; au centre du nucléoïde de certains globules, il peut exister une tache colorée en bleu, la plaquette. Il existerait des plaquettes endo-globulaires,et il décrit les différents stades de leur expulsion, stades qui sont d'ailleurs susceptibles d'une autre interprétation (plaquettes accolées à des globules rouges).

P. Foa (1900) critique les travaux de Lavdovsky et de Maximow : il insiste sur les affinités tinctoriales différentes de la plaquette et du nucléoïde,et conclut qu'il n'y a pas d'arguments qui

démontrent que la plaquette ne soit un élément morphologique du sang.

Sacerdotti (1900-1901), critiquant les travaux des mêmes auteurs, n'admet pas que la plaquette représente un bourgeon du globule rouge. Il considère la plaquette d'Arnold comme différente de la plaquette de Bizzozero Il insiste très justement sur les conclusions erronées que l'on peut tirer des rapports des hématies ou des plaquettes sur des lames sèches : des figures d'accolements étant prises pour des hématies en train d'expulser des plaquettes ou, suivant la position, pour des plaquettes endo-globulaires. Sacerdotti considère la plaquette comme un élément indépendant, possédant des caractères morphologiques et chimiques constants qui la différencient des formes d'altérations des autres éléments du sang.

A. Petrone, au cours de recherches sur la persistance du noyau des globules rouges, admet d'abord l'autonomie des plaquettes (1897) : il les considère ensuite comme des produits artificiels créés par un défaut d'isotonie. Ultérieurement il admet qu'elles représentent le *zoïde* du globule rouge (1899). Enfin (1901) il reconnaît que la plaquette ne présente pas la réaction ferrique du *zoïde*, et il en fait de nouveau un élément autonome.

H. Dominici (1900-1901) range les globulins de Donné, les hématoblastes de Hayem, les plaquettes de Bizzozero parmi les constituants du tissu lymphoïde. Pour lui, les globulins sont des organites, c'est-à-dire des éléments figurés, issus de cellules, dépourvus de noyau. Sous le nom de cellules-mères des globulins, il décrit des mononucléaires dont le protoplasma est hérissé de bourgeons pédiculés qui, en se libérant des cellules-mères, constituent des globulins. Comme il est impossible de trouver le moindre signe de bipartition des globulins, il faut admettre que la multiplication de ces organites est fonction de la gemmation du protoplasma des cellules-mères.

Malassez (1896) avait déjà admis comme hypothèse plausible le développement des globulins aux dépens des leucocytes.

Les travaux que je viens d'exposer tendent à infirmer la conception de Bizzozero de l'autonomie de la plaquette, autonomie

qui n'est plus guère défendue que par quelques rares auteurs (Foa, Sacerdotti) et il faut bien reconnaître qu'il était très difficile de faire entrer dans le cadre cellulaire un élément aux aspects multiples, sans noyau, auquel on ne pouvait reconnaître aucune propriété vitale, et avec Deetjen, Deckhuysen, Fr. Kopsch, la plaquette va être assimilée, à tort d'ailleurs selon moi, à une cellule ordinaire.

Deetjen (1901) après fixation à l'osmium, décrit à la plaquette un noyau sous forme d'une masse centrale se colorant par l'hématéine et les principales couleurs d'aniline ; ce noyau est entouré d'une zone protoplasmique mince qui se teint par l'éosine. Examinant du sang frais sur des lames recouvertes d'une mince couche de gélose additionnée de chlorure de sodium, de métaphosphate acide de potassium et de phosphate de soude en proportions déterminées, Deetjen voit les plaquettes émettre des prolongements qu'il assimile à des pseudopodes ; il s'agirait de véritables mouvements amiboïdes : ces mouvements s'observent à la température du laboratoire, mais ils sont plus vifs à une température de 40°.

Deckuysen (1901) confirme les observations de Deetjen relativement au noyau et aux mouvements amiboïdes des plaquettes.

Dans un chapitre ultérieur sur la coagulation, j'étudierai l'agglutination des éléments du sang extrait des vaisseaux (1er temps de la coagulation de certains auteurs) : on sait que, dans le sang extrait, sans précautions spéciales pour éviter le contact des tissus, certains éléments du sang s'agglutinent, globulins chez les mammifères, « *plaquettes nucléées* » et leucocytes chez les ovipares et chez les invertébrés. Deckuysen confond sous le nom de *thrombocytes* tous ces éléments susceptibles de s'agglutiner, et en fait un élément spécial du sang. C'est en somme, avec le mot nouveau de *thrombocyte*, l'ancienne conception de Hayem et de Bizzozero, avec en plus l'homologation des leucocytes des invertébrés à des éléments fort différents.

Fr. Kopsch (1901) adopte la théorie du thrombocyte : il a pu également colorer un noyau par l'hématéine au fer, le vert de méthyle, la thionine.

Je n'ai jamais vu chez les globulins de noyau colorable par l'hématéine ou les couleurs d'aniline ; je n'ai pas davantage constaté de mouvements amiboïdes.

Les noyaux colorables par l'hématéine sont peut-être une formation artificielle, une sorte de nucléoïde de globulin ? A moins qu'il n'y ait eu confusion avec d'autres éléments ? Les mouvements amiboïdes correspondent à des altérations agoniques des globulins ; il ne s'agit pas de pseudopodes vrais ; personne, comme le fait remarquer J. Jolly, n'a vu le retrait d'un de ces prétendus pseudopodes. Wlasov et Sepp (1902) avaient déjà fait la même remarque, et constaté que l'émission de ces soi-disant pseudopodes n'était pas supprimée par l'acide phénique ou le chloroforme, qui suspendent pourtant les mouvements des leucocytes.

Argustinski, au cours de recherches sur le sang paludéen, travaillant avec la méthode Giemsa,décrit un noyau aux plaquettes : la plaquette se compose d'une masse centrale colorée en violet, à contours anguleux souvent irréguliers,et d'une partie périphérique bleu clair. Sur un grand nombre de lames, on ne peut pas voir de noyau distinct, mais simplement des granulations violettes éparses comme chez le parasite de la malaria. Argutinski attribue ce dernier aspect à une fixation défectueuse. Depuis, tous les auteurs qui se sont servis du Giemsa ont retrouvé des aspects plus ou moins analogues dans la coloration des plaquettes.

Je cite seulement le travail de Poljakoff (1901) : cet auteur étudie les éléments cellulaires qui se développent dans une chambre humide placée dans le tissu cellulaire ou dans le péritoine de l'animal ; dans de telles conditions il est évident que les plaquettes de cet auteur n'ont aucun rapport avec les globulins.

G. Vassale (1901) développe un travail qu'il avait ébauché antérieurement sur l'origine des plaquettes.

Dans la première partie de son travail,il fait la critique des travaux d'Arnold et de Maximow et montre que la plaquette de ces auteurs n'est pas celle de Bizzozero.

Vassale a trouvé des plaquettes dans les ganglions lymphatiques et dans la rate ; il n'en a pas vu dans la lymphe ni dans la moelle osseuse.

Vassale admet, avec Bizzozero, l'homologie des plaquettes non nucléées des mammifères et des plaquettes nucléées des ovipares ; étudiant le sang du poulet intoxiqué par l'eau oxygénée, il voit avec une méthode de coloration spéciale des formes de transition entre les globules rouges et les plaquettes nucléées. D'après lui la plaquette nucléée et son homologue la plaquette non nucléée représenteraient une forme régressive du globule rouge.

Avec les travaux de H. Hirschfeld nous revenons aux plaquettes endo-globulaires et aux nucléoïdes. Sur des lames de sang fixées à la chaleur, colorées à l'éosine-bleu, Hirschfeld décrit au centre des globules une zone colorée en bleu : c'est la plaquette avant son expulsion ; il peut y avoir plusieurs plaquettes dans le même globule. Il est facile en examinant la planche qui accompagne le travail de cet auteur, de se rendre compte des ressemblances qu'il y a entre les plaquettes de Hirschfeld et celles de Maximow. Hirschfeld admet cependant la possibilité du développement leucocytaire des plaquettes dans le sang leucémique.

Les idées de Hirschfeld ne sont pas acceptées par Schwalbe. Si l'on veut bien se rapporter à l'exposé que j'ai fait plus haut des travaux de l'école d'Arnold, et comparer d'un côté les figures d'Arnold et de Schwalbe, d'un autre celles de Hirschfeld, on se rendra facilement compte que les plaquettes de ces auteurs n'ont de commun entre elles que le nom.

Hirschfeld considère, et sur ce point je suis d'accord avec lui, les plaquettes d'Arnold comme des produits artificiels ; mais à mon tour je considère les plaquettes nucléoïdes de Hirschfeld comme un produit artificiel n'ayant de commun que le nom avec la plaquette Bizzozero.

A. Pappenheim admet aussi pour expliquer la formation des plaquettes la théorie du nucléoïde : le nucléoïde de Pappenheim se colore par le bleu de Nil, le bleu de Capri, le vert de méthyle. La nucléoïde de Pappenheim est en relation avec la dissolution du noyau de l'hématie qui serait expulsé du globule et constituerait

la plaquette. Au point de vue clinique, la quantité des plaquettes du sang serait en rapport avec certaines propriétés toxiques du sérum (cancer, mal de Bright). Pappenheim admet donc deux sortes de plaquettes : les plaquettes du sang normal, les plaquettes du sang pathologique, représentant des restes nucléaires expulsés à des phases différentes de leur involution et ayant une structure sensiblement différente.

Preisich et Heim (1903-1904) soutiennent sur l'origine des plaquettes une théorie qui se rapproche singulièrement de celle de Hirschfeld : la seule différence, et la remarque est de Hirschfeld lui-même, c'est que par l'éosine-bleu les plaquettes de Hirschfeld prennent le bleu, tandis que celles de Preisich et Heim prennent le rouge. A noter également que Preisich et Heim n'admettent pas la légitimité des plaquettes de Wlasov et de Maximow.

Fr. Weidenreich, dans ses importants travaux sur la structure du globule rouge, s'occupe incidemment de la nature et de la signification des plaquettes : il est partisan de l'origine globulaire, mais il s'éloigne des auteurs précédents, et il n'admet pas la réalité du nucléoïde qu'il considère comme une simple apparence due au contact des deux faces de la membrane au niveau du centre excavé du globule.

F. O. Huber (1902), fixant le sang par les vapeurs de formol et colorant à l'éosine-bleu, constate une coloration bleue au centre du globule ; ce corpuscule coloré en bleu représenterait l'origine de la plaquette ; la plaquette est expulsée du globule par l'étalement sur lame, et le plus ou moins grand nombre de plaquettes observées est en relation avec la fragilité des globules rouges.

La plaquette de Huber est une plaquette nucléoïde, vraisemblablement par fixation insuffisante.

P. Schneider (1903), dans un travail de critique histologique, montre les différences qu'il y a entre les plaquettes et les produits de séparation des globules rouges sous l'influence de réactifs plus ou moins nocifs. Il insiste sur l'affinité pour les couleurs acides des globules rouges et de leurs fragments, sur l'affinité des plaquettes pour les couleurs basiques, affinité qui ne me paraît que très

modérée. Il montre l'action différente de l'acide acétique sur les plaquettes et les globules rouges, et de la résistance des plaquettes à ce réactif, il tire la conclusion qu'elles doivent probablement représenter des débris nucléaires.

Burker (1903-1904) introduit une technique nouvelle qui se propose d'éviter la coagulation. Il se base sur le fait, très exact dans les conditions où se sont placés tous les auteurs jusqu'à aujourd'hui, que les plaquettes sont d'autant plus nombreuses qu'on évite davantage la coagulation. D'après lui, les solutions salines qui retardent la coagulation conservent les plaquettes. Il montre également l'action parallèle de la température sur la coagulation et la conservation des plaquettes : action accélératrice de la chaleur qui détruit les plaquettes, action retardatrice de froid qui les conserve. Il signale également l'action favorable de la paraffine : on sait depuis Freund que le sang maintenu au contact de la paraffine coagule beaucoup plus lentement qu'au contact du verre. Je montrerai plus loin que le parallélisme entre le retard de la coagulation et la conservation des globulins est loin d'être absolu, qu'en réalité il s'agit là de deux phénomènes indépendants. Burker fait des plaquettes des éléments indépendants du sang : il leur donne la forme de petits disques arrondis, légèrement convexes, absolument incolores ; il en a vu d'allongés, de rameux, mais il les considère comme des formes altérées.

Moravitz (1904) admet l'indépendance des plaquettes. Il insiste sur la disproportion qui existe entre leur nombre et celui des leucocytes et la difficulté qu'il y aurait à admettre la genèse des premières aux dépens des seconds, un leucocyte devant fournir 60 plaquettes. Les plaquettes ne contiennent jamais d'hémoglobine.

F. Marino (1905) montre qu'on peut *empêcher* la formation des plaquettes. Il isole la carotide d'un lapin et l'excise entre deux ligatures. Il ouvre ensuite le fragment vasculaire dans de l'alcool absolu et laisse échapper une petite quantité de sang. « *Par ce procédé on peut préparer un grand nombre de tubes dans lesquels le sang, étant fixé très vite, ne donne jamais lieu à la formation de plaquettes.* » Il est intéressant de noter qu'en usant du

même procédé avec de l'alcool à 30° on n'observe plus, d'après Marino, que des plaquettes et des globules blancs, sans globules rouges.

Helber (1905) admet l'origine des plaquettes aux dépens du noyau des hématies : il est d'ailleurs partisan de la pluralité des plaquettes, dont un certain nombre seraient d'origine leucocytaire.

Buckmaster (1906) est également partisan de la pluralité des plaquettes : il en admet quatre variétés selon qu'elles contiennent ou non de l'hémoglobine, qu'elles possèdent ou non un *corps interne*. En répétant les observations de Deetjen, il n'a jamais pu observer le retrait d'un pseudopode. Il considère les plaquettes comme des produits plus ou moins artificiels.

Grawitz (1906), sur des photographies à l'ultra-violet, n'a vu dans les plaquettes qu'un feutrage de filaments irréguliers : d'après lui, elles pourraient provenir soit des globules rouges, soit de la substance nucléaire des leucocytes, ou bien encore être constituées par un précipité.

Le Sourd et Pagniez, recueillant du sang de lapin dans une solution de NaCl oxalatée, obtiennent par la centrifugation en deux temps les hématoblastes à l'état de pureté ; ils les décrivent sous forme *de très petits éléments qui à l'état frais se montrent serrés les uns contre les autres, réfringents, incolores, mesurant* 1 *à* 2 μ *chacun, de forme tantôt arrondie, tantôt allongée ou rameuse*. L'expérience réussit également bien d'après ces auteurs lorsqu'on remplace l'oxalate de potasse par le fluorure de sodium.

Kemp, Harris et Calhoun (1906) se basant sur un certain nombre de réactions microchimiques (granules colorables par le vert de méthyle, résidu après digestion par pepsine et acide chlorhydrique), admettent l'existence dans la plaquette de substance nucléaire ; pour ces auteurs la plaquette pourrait représenter soit un résidu nucléaire, soit un élément indépendant avec substance nucléaire diffuse.

G. Vallet (1906) considère l'hématoblaste des mammifères comme une cellule, la plus petite de l'organisme : il suffit pour s'en convaincre d'étudier une lame de sang prise par piqûre du

doigt et colorée par la méthode de Giemsa ; on aperçoit des éléments de forme arrondie, quelquefois ovalaires, rarement irrégulière. Dans un certain nombre de cas, on note un prolongement rectiligne, fin et long de 1 μ. Le diamètre de l'élément est de 2 μ environ. Enfin on note 6 ou 8 granulations, tantôt centrales, tantôt périphériques, colorées en violet comme les noyaux leucocytaires. Vallet considère ces granulations comme une substance nucléaire diffuse et la rapproche du noyau des bactéries.

P. Foa (1906), dans un travail sur la constitution de la rate, signale la présence des plaquettes dans cet organe. Il différencie bien les vraies plaquettes et les pseudo-plaquettes qui existent dans les ganglions : les pseudo-plaquettes ganglionnaires se colorent en rouge par le réactif de Pappenheim et sont des fragments de mononucléaires. Les vraies plaquettes ne prennent pas la pyronine, mais par le Giemsa montrent des granulations violettes sur fond azur. Il insiste de nouveau sur les réactions histologiques différentes de la plaquette et du nucléoïde.

H. Wright (1906), se basant sur l'étude des organes hématopoiétiques, principalement de la moelle, admet que les plaquettes sont des fragments du bord des mégakaryocytes. Il a vu la bordure des mégakaryocytes, examinée à la platine chauffante, émettre des pseudopodes qui en se libérant constitueraient des plaquettes. Malheureusement les photographies de Wright ne permettent pas l'identification de ses plaquettes, qui me semblent devoir constituer une espèce nouvelle.

D'après Retterer (1906-1907), la plaquette est le terme ou le stade ultime de l'évolution des hématies ou des leucocytes, soit dans le sang circulant, soit à la suite de leurs altérations mécaniques ou chimiques.

Samele (1906) fait dériver les plaquettes des produits de plasmolyse des globules rouges ; il en décrit d'endo-globulaires et d'extra-globulaires : je souscris d'ailleurs à ses conclusions et je considère les éléments qu'il représente comme correspondant à des produits de plasmolyse artificielle.

V. Patella (1907) pense que les plaquettes sont un produit de désagrégation des mononucléaires, et il rattache la crise hémato-

blastique de Hayem qui suit les maladies infectieuses aux phénomènes d'histolyse leucocytaire qu'il a lui-même observés au cours de ces mêmes infections.

G. Spadaro (1907), tout en faisant dériver les plaquettes des globules rouges, en fait un élément morphologique.

G. Castronuovo et P. Spirito (1908), s'appuyant sur ce que la solution de Bizzozero (chlorure de sodium et violet de méthyle) n'est pas isotonique, considèrent les plaquettes comme des débris de cellules : leur préexistence dans les vaisseaux ne prouve pas du tout qu'il s'agisse d'un élément vivant. La variabilité de forme et de nombre des plaquettes, l'absence de mouvements propres, la non-existence d'un noyau, plaident contre la caractérisation de la plaquette comme élément histologique : la plaquette est un débris de cellule (hématies, leucocytes, endothélium).

E. M. Brockbank (1908) considère les plaquettes comme des produits d'expulsion des globules rouges et fait la confusion faite par nombre d'auteurs de plaquettes simplement accolées à des globules rouges avec des plaquettes soi-disant endo-globulaires ou des globules rouges en train d'expulser des plaquettes.

*
* *

On voit par ce résumé historique à quels résultats a conduit l'étude de la plaquette en dehors de l'organisme : autant d'auteurs, autant d'opinions différentes sur la morphologie, les dimensions, les réactions colorantes. Sur la signification même de cet élément, on peut dire que toutes les opinions ont été émises, puisque on en a fait tantôt un élément indépendant et autonome, tantôt un dérivé, un fragment des autres éléments du sang (hématie, leucocyte, endothélium, précipité albumineux). En présence de ces résultats décevants fournis par l'observation directe du globulin, certains auteurs (Le Sourd et Pagniez, Cole, Sacerdotti, Chevrel et Roger) ont eu recours à une méthode indirecte pour solutionner le problème : ils ont préparé des sérums anti-hématoblastiques, anti-plaquettes. Ici encore, l'accord n'existe pas entre ces différents auteurs, et le désaccord résulte d'une technique insuffisante d'observation *in vitro*. Les résultats de ces auteurs

seraient-ils concordants, je ne crois pas qu'ils résoudraient le problème. La possibilité d'obtenir un sérum anti-globulin n'a aucune signification relativement à la nature du globulin, puisqu'il existe des anti-corps pour des cellules, des organites tels que les globules rouges, ou même des substances non figurées ; et elle ne peut aboutir qu'à des hypothèses relativement aux relations du globulin avec les autres éléments du sang.

Le présent travail représente une étude du troisième élément du sang par la méthode d'observation directe.

CHAPITRE II

OBSERVATION DU GLOBULIN

§ 1. — Globulin chez le vivant.

L'observation microscopique des éléments qui circulent à l'intérieur d'un vaisseau sur l'animal vivant nécessite de multiples conditions : il faut des vaisseaux d'un calibre suffisamment petit pour que le nombre même des éléments qui y sont contenus ne constitue pas un obstacle à leur observation : dans des artérioles ou des veinules à peine visibles à l'œil nu, on ne voit, au microscope, qu'une traînée rouge dans laquelle on n'arrive pas à reconnaître des objets aussi familiers que les hématies. De plus, sur le fond rouge on distingue très mal les éléments incolores du sang. Les capillaires, où les éléments ne circulent que sur une seule file, constituent l'objet de choix pour l'étude de la circulation chez le vivant.

Je me suis servi de l'épiploon de jeunes lapereaux de 600 à 800 gr. A cet âge l'épiploon contient encore, à côté de vaisseaux atrophiés, un réseau capillaire propre qui manque complètement dans le mésentère proprement dit : il ne contient pas de graisse et il est suffisamment mince ; il a malheureusement l'inconvénient d'être d'une extrême fragilité.

Une petite planchette de bois, solidement fixée sur la platine du microscope, est destinée à supporter l'animal ; à son centre est un orifice circulaire d'un centimètre de diamètre, sur les bords duquel est collé un anneau de liège de 2 millimètres de hauteur recouvert par une lamelle ronde sur laquelle sera étalé l'épiploon.

L'animal est anesthésié par une injection sous-cutanée de chlo-

ral ; l'abdomen est soigneusement rasé ; au niveau de l'estomac on fait une boutonnière verticale par laquelle on fait sortir l'épiploon ; l'animal est fixé sur la planchette de manière que la boutonnière abdominale corresponde au bord du disque de liège, et l'épiploon est étalé avec précaution sur la lamelle. Un dispositif facile à imaginer permet de faire couler goutte à goutte sur la préparation de l'eau salée physiologique tiède.

L'observation est faite avec un fort objectif à sec, de préférence à la lumière artificielle, en diaphragmant moyennement.

De multiples contre-temps viennent le plus souvent mettre à une rude épreuve la patience de l'observateur ; si le courant d'eau est trop fort, l'épiploon se soulèvera et viendra buter contre l'objectif, ou bien, et c'est là l'ennui le plus grave, les vaisseaux se déchireront,il se produira une hémorragie qui empêchera toute observation. Lorsque tous ces incidents sont évités, on cherche avec un objectif faible un vaisseau favorable qu'on examine ensuite avec un 7 ou un 8. Dans les capillaires, on voit les globules rouges sur une seule file traverser le champ de la préparation ; de temps en temps on aperçoit un leucocyte. L'observation attentive permet de se rendre compte, comme l'a bien vu Bizzozero, qu'il y a autre chose que les globules rouges et les globules blancs. De temps en temps,on aperçoit dans le vaisseau des petits corps extrêmement pâles tout à fait différents des globules rouges : ils sont beaucoup plus allongés et se rapprochent morphologiquement beaucoup plus d'un bâtonnet que d'un disque. Préciser leur forme par leur étude chez le vivant est à mon avis une chose absolument impossible ; ils ne font que traverser le champ de la préparation, et on ne peut pas faire varier la mise au point sur un même élément pour apprécier la manière dont il réfracte la lumière, pour voir s'il se comporte comme un objet concave, convexe ou plan. Tout ce que l'on peut observer, c'est leur aspect général : comme je l'ai dit plus haut, ils ont nettement une forme allongée ; ils ont tous cette même forme, mais ils sont de dimensions inégales ; en un mot, ils ont un type morphologique commun.

La description que je viens de donner des globulins concorde

avec les représentations qu'en ont faites Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch, mais elle s'éloigne de leurs descriptions. Je considère simplement, pour le moment, comme forme normale du globulin, la forme allongée que je lui ai vue à l'intérieur des vaisseaux chez l'animal vivant.

J'ai complété l'observation chez l'animal vivant par l'étude de fragments d'épiploon recueillis immédiatement après la mort chez de jeunes animaux que je venais de sacrifier. L'épiploon est simplement déposé sur une lamelle de verre avec une goutte d'eau salée physiologique tiède ; la préparation est recouverte d'une lamelle et lutée à la cire, l'examen fait à la platine chauffante ; on peut utiliser de plus forts grossissements par l'emploi de l'immersion ; enfin la suppression de la circulation permet d'examiner à loisir la forme des éléments ; le sang se conserve liquide pendant des heures à l'intérieur des vaisseaux, et par des pressions légères sur la lamelle, on peut créer un courant à l'intérieur des vaisseaux et en mobiliser les éléments.

J'ai examiné par cette méthode l'épiploon de jeunes lapins de 600 à 800 grammes, de fœtus de cobayes de 5 à 11 centimètres, de rats blancs nouveau-nés ; chez ces trois espèces animales, j'ai constaté à l'intérieur des vaisseaux l'existence de fuseaux très allongés, véritables bâtonnets, beaucoup plus pâles que les globules blancs, de longueur égale et même quelquefois supérieure à celle des globules rouges ; ils sont moins nombreux que les hématies, mais infiniment plus nombreux que les leucocytes. Si au lieu d'examiner un capillaire, on examine une artériole ou une veinule, on les voit se disposer en dehors de la zone centrale qui est occupée par les globules rouges. C'est là un point sur lequel avaient déjà insisté Eberth et Schimmelbusch (1). Quelques

(1) Les figures de ces auteurs sont des plus démonstratives. Ils ont longuement insisté sur la margination des leucocytes et des globulins avec le ralentissement du courant sanguins et leurs constatations ne sont nullement en contradiction avec celles de Laker, comme le pense M. Ph. Pagniez (Aperçu sur l'état actuel de la question des plaquettes, *Journal des mal. du cœur, des vaisseaux et du sang*, janvier 1909).

très rares exemplaires présentent une forme arrondie ; cette forme arrondie devient de plus en plus fréquente à mesure que l'observation se prolonge, et il est permis de penser qu'elle correspond à une altération. Eberth et Schimmelbusch avaient déjà observé le même fait et insisté sur ces deux aspects différents des plaquettes : sur ce point, comme sur bien d'autres, mes observations concordent pleinement avec les leurs. Il est curieux de constater que Löwit, tout en niant l'existence des plaquettes en tant qu'élément du sang, a vu et même figuré très exactement ces deux aspects différents des plaquettes dans des observations faites sur des fragments de mésentère : les images qu'il en donne (1) ont la plus grande analogie avec celles d'Eberth et Schimmelbusch ; mais Löwit n'ayant pu les observer chez l'animal vivant, les considère comme représentant un précipité de globuline.

Au cours de mes observations post-vitales, j'ai constaté l'agglutination des globulins, à l'intérieur des vaisseaux non oblitérés, et l'aspect de ces agglutinations rappelait tout à fait les images d'Eberth et Schimmelbusch et de Löwit : paquets d'éléments allongés, en fuseau. J'ai de plus constaté que les globulins isolés présentaient des mouvements d'oscillation, alors que les éléments voisins, hématies et globules rouges, étaient absolument immobiles.

§ 2. — Globulin en dehors de l'organisme.

Toutes les observations sur le vivant que je viens de rapporter démontrent d'une manière certaine l'existence normale dans le sang à l'intérieur des vaisseaux d'un élément autre que le globule rouge ou le globule blanc. Mais il est aisé de se rendre compte que l'observation de la circulation chez l'animal vivant ou de réseaux capillaires de fines membranes tels que l'épiploon après la mort, ne permettent, avec de grosses difficultés techni-

(1) Löwit, Die Beobachtung der Circulation ...., *Arch. für exp. Path.*, 1887, Bd. 23.

ques, que des constatations extrêmement limitées. Il était nécessaire, pour préciser la nature du globulin, de pouvoir l'observer *in vitro*, de faire agir sur lui différents agents chimiques et physiques, ainsi que cela peut se faire aisément pour les leucocytes. Aucune des techniques que j'ai exposées dans le chapitre précédent ne permet d'observer *in vitro* le globulin avec les caractères qu'il possède à l'intérieur du vaisseau. Toutes montrent des éléments de forme variable, si bien que, jusqu'à aujourd'hui, le globulin n'a pu encore se faire admettre d'une façon définitive au rang d'élément histologique. Les techniques que je viens de mentionner utilisent comme milieu d'examen soit des solutions anti-coagulantes, soit des sérums dits physiologiques. Enfin on s'est servi d'agents physiques : action du froid, action isolante des corps gras et de la paraffine.

Je me suis proposé d'observer *in vitro* le sang tel qu'il circule à l'intérieur des vaisseaux, c'est-à-dire en dehors de toute coagulation et sans adjonction d'aucun réactif : je supposais, opinion que j'ai abandonnée depuis, que la coagulation déterminait l'altération des globulins, et j'ai cherché à éviter la coagulation par les seuls agents physiques. J'ai utilisé les recherches de Freund sur l'action anti-coagulante du contact des corps gras ou de la paraffine ; j'ai également utilisé les travaux de Delezenne (1) sur l'action activante des tissus sur la coagulation ; on sait que Delezenne a montré que chez les ovipares on pouvait obtenir un plasma incoagulable à condition de prendre le sang directement à l'intérieur du vaisseau, à l'abri du contact des tissus : le sang recueilli au contact d'une plaie coagulant presque instantanément. Il suffit de la plus petite faute opératoire pour que l'expé-

(1) Delezenne, Préparation d'un plasma pur et stable par simple centrifugation de sang d'oiseau, *C. R. Soc. biologie*, 1896 ; Coagulation du sang chez les reptiles, *Ibid.*, 8 mai 1897 ; Coagulation du sang chez les batraciens et les reptiles, *Ibid.*, 22 mai 1897 ; Recherches sur la coagulation du sang chez les oiseaux, *Archives de physiologie*, 1897.

La préparation de plasmas d'oiseaux, de reptiles ou de poissons par la méthode de Delezenne constitue un excellent exercice préparatoire à l'étude du globulin, et permettant de se rendre compte du rôle considérable des tissus sur le sang.

rience ne réussisse pas. Chez les mammifères, la différence du temps de coagulation suivant la prise (plaie ou intérieur du vaisseau) est moindre, mais n'en existe pas moins.

Le point capital de la technique que nous avons proposée, M. Achard et moi, consiste dans la manière de recueillir le sang. Dès le début de nos recherches, l'expérience nous a montré l'importance du rôle des tissus ; il suffit que l'animal se défende, s'agite et imprime un mouvement au trocart dans la plaie vasculaire pour que l'observation des globulins soit impossible. J'indiquerai les différentes manières de procéder suivant les animaux.

Pour recueillir le sang, je me sers toujours de trocart vaseliné ou de pipette paraffinée, intus et extra. Le sang est recueilli directement dans des vases ou des tubes paraffinés et soumis à la centrifugation ou sédimentation.

L'observation au miscroscope se fait en goutte pendante. Avec une pipette paraffinée on transporte une petite goutte de plasma sur une lamelle huilée ou vaselinée. Il importe de se servir de lamelles très minces et que la couche d'huile ou de vaseline soit également très mince afin de pouvoir utiliser les forts grossissements. Je me suis servi,au début, d'huile de vaseline et de paraffine ; actuellement, je préfère la vaseline,qui est tout aussi transparente et qui n'a pas l'inconvénient de glisser entre la cellule et la lamelle.

Au début, je me suis servi d'une cellule ordinaire en verre ; actuellement, depuis deux ans, je ne me sers plus que d'une platine chauffante de Reichert, transformée en cellule chauffante par suppression de l'appareil d'éclairage.

L'observation des globulins est de difficulté variable suivant les animaux ; en raison de la petitesse des vaisseaux,il est très difficile de faire des prises de sang convenables chez les petits mammifères de laboratoire : cobaye, rat, souris. Le lapin, le chat ont une carotide plus abordable. Le chien, sujet de 10 à 20 kilogs, a des vaisseaux suffisants, mais son sang sédimente très lentement : en

(1) Ch. Achard et M. Aynaud, Sur l'observation directe des hématoblastes dans le plasma sanguin, *Soc. de Biologie*, 7 décembre 1907. Sur les hématoblastes des vertébrés ovipares, *Ibid.*, 14 décembre 1907.

faisant à l'animal une saignée un peu copieuse quelques jours avant, on facilite beaucoup la sédimentation sanguine et l'observation des globulins.

L'âne est l'animal de choix (1). Une ponction de la jugulaire à travers les téguments, à condition de pénétrer d'un coup dans le vaisseau, suffit : c'est une condition indispensable de succès ; si le trocart hésite, se charge du suc des tissus, le sang est absolument inutilisable. Il est également nécessaire de perdre les 200 ou 300 grammes de sang qui s'écoulent au début de la saignée et qui servent à laver le trocart. Enfin la veine doit être absolument saine : une veine altérée par des saignées antérieures ne donne que des globulins altérés. Actuellement (novembre 1909), il ne m'est plus possible de prolonger comme je le faisais au début de mes recherches (octobre 1907) l'observation des globulins pendant des heures. Les ânes dont je me suis servi ont des veines altérées par les ponctions antérieures, et donnent un sang qui coagule beaucoup plus rapidement et dans lequel les globulins s'altèrent très vite.

Le sang de l'âne présente un avantage, celui de sédimenter extrêmement vite : au bout de 4 ou 5 minutes de sédimentation spontanée, de 2 minutes de centrifugation, on a un plasma à la partie supérieure du tube suffisamment débarrassé des globules rouges pour que ces derniers ne constituent pas par leur nombre un obstacle à l'observation des globulins. Au début de mes recherches, je ne tenais aucun compte de la température ; les saignées étaient pratiquées dans une pièce non chauffée (octobre 1907) ; le sang était centrifugé dans une turbine à eau où la température est toujours très basse.

L'observation du plasma dans ces conditions montre déjà le sang sous un aspect tout à fait nouveau. Les globules rouges tombent rapidement au fond de la goutte où ils ne tardent pas à être suivis par les globules blancs. Le champ entier du microscope lorsqu'on met au point sur les parties superficielles de la goutte est occupé pas une infinité d'éléments extraordinairement

(1) Il doit en être sans doute de même du cheval, dont le sang coagule lentement et sédimente très vite. — J'ai utilisé des ânes soumis à des injections de toxines tuberculeuses.

abondants. Ils se touchent presque les uns les autres, et, en faisant varier la mise au point, on peut en voir une série de plans se succéder jusqu'à la partie inférieure de la goutte. Au milieu de cette quantité énorme d'éléments apparaissent çà et là quelques leucocytes. Ces éléments sont donc plus légers que les leucocytes et les globules rouges. Ils sont tous isolés et de forme régulière et typique : ils sont régulièrement arrondis, quelques-uns ovalaires. En faisant varier la mise au point, ils deviennent obscurs ou clairs en même temps et d'une manière égale sur toute leur surface : ce sont donc des disques plans. Ils sont de taille très inégale ; les plus gros ont la taille d'un lymphocyte ; les plus petits, le quart d'un globule rouge. Ils sont extrêmement pâles, et pour les distinguer il est nécessaire d'avoir un éclairage faible ; ils sont moins réfringents que les leucocytes, tout en ayant la même coloration. Je ne leur ai jamais vu la moindre coloration hémoglobique ; à leur périphérie un halo brillant les sépare du plasma.

Si nous portons maintenant notre attention sur les globules blancs, nous verrons qu'ils sont tous, sans exception aucune, de forme absolument régulière, sans noyau apparent, en un mot absolument intacts, tels qu'on peut les apercevoir à l'intérieur des vaisseaux chez l'animal vivant.

A l'heure actuelle, j'ai pratiqué plus de quarante saignées chez dix ânes différents, toujours avec les mêmes résultats ; je n'ai jamais observé de leucocytes en voie de désintégration ; je n'ai pas vu davantage de globules rouges en voie d'altération ; globules rouges et globules blancs intacts d'une part, globulins d'autre part représentant absolument tous les éléments figurés que j'ai vus dans le plasma de l'âne : les *Kőrner-Kugel* de Semmer, les *Kőrnermassen* et les *Kőrnchenhaufen* de Slevogt proviennent d'une altération des éléments du sang, du fait du refroidissement, du contact du verre, ou représentent des produits de coagulation.

Dans le sang examiné avec cette technique, les globules rouges et les globules blancs ont absolument le même aspect que dans les vaisseaux ; il n'en est pas de même des globulins qui sont moins allongés que ceux que l'on peut voir dans les vais-

seaux de l'animal vivant, du lapin par exemple. S'agit-il d'une différence morphologique individuelle, les globulins de l'âne auraient-ils une forme différente de ceux du lapin, ou bien s'agit-il d'une altération morphologique ?

La prise en considération de l'élément température permet de répondre à la question.

L'action du froid se fait sentir relativement lentement sur le sang contenu dans les tubes paraffinés : la paraffine conduit mal la chaleur et, d'autre part, la masse du sang lui-même contribue à retenir la chaleur. Les conditions sont tout autres lorsqu'on examine une goutte de sang isolée, suspendue en goutte pendante dans une chambre humide ; la surface de rayonnement est devenue considérable par rapport à la masse de la goutte et le refroidissement est extrêmement rapide. C'est donc surtout pendant le temps de l'examen microscopique qu'il importe de créer aux globulins une température voisine de la température physiologique. Pour cela j'utilise une platine chauffante de Reichert. Cette platine se compose essentiellement d'une plaque métallique dans laquelle on peut faire passer un courant d'eau chaude. Sur l'un des bords se trouve un thermomètre ; au centre de l'appareil, une lentille ; en dévissant cette lentille, on peut transformer la platine chauffante en une véritable chambre humide chauffante : pour cela il suffit d'appliquer la plaque sur la platine de microscope, l'orifice de la platine chauffante correspondant à l'orifice de la platine du microscope ; il faut avoir soin de relever l'appareil d'éclairage Abbe et de mastiquer soigneusement l'appareil sur le microscope de manière à éviter toutes les fuites : il ne reste plus alors qu'à renverser la lamelle sur les bords de l'orifice de la platine, et à luter avec de la cire.

La température à l'intérieur de la cellule est évidemment inférieure à celle de la plaque, température qui est donnée par le thermomètre. L'expérience m'a appris qu'une température de 40° indiquée par le thermomètre est une température suffisante.

Il va sans dire que l'on ne doit pas non plus négliger le refroidissement qui peut se produire pendant la sédimentation du sang dans les tubes paraffinés. En ce qui concerne le sang d'âne, si la

température extérieure est aux environs de 23° ou 24°, on peut conserver pendant plus d'une heure des globulins normaux en tube paraffiné.

L'examen du plasma d'âne à une température de 38 à 40° montre les globulins avec un aspect complètement différent de celui que j'ai indiqué plus haut.

Le champ de la préparation est occupé par une multitude de bâtonnets, 4 à 6 fois plus longs que larges (fig. 1) ; les plus grands

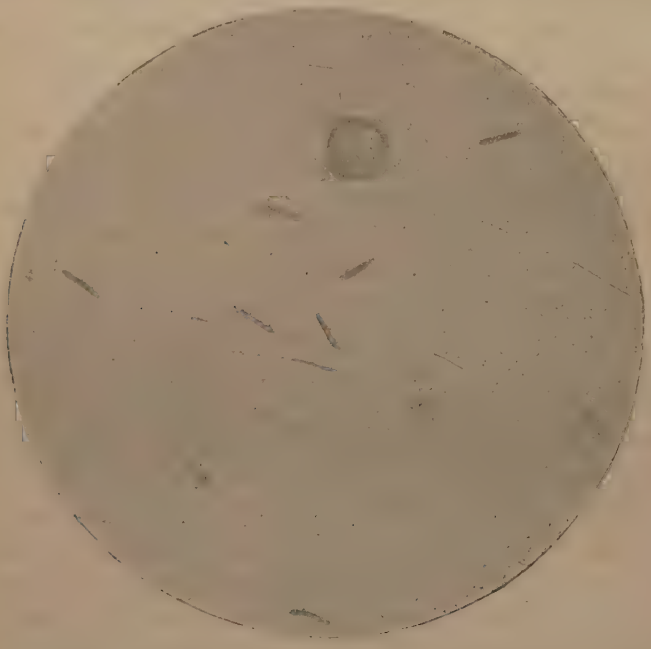


Fig. 1. — Plasma d'âne sans addition d'aucun réactif, examiné à une température de 38°. — Dessin à la chambre claire. — Quelques éléments seulement ont été représentés. — Un globule rouge a été dessiné comme terme de comparaison.

atteignent et peuvent dépasser en longueur le diamètre des globules rouges ; les plus petits atteignent à peine le tiers ou le quart de ce diamètre.

Ces bâtonnets, tous isolés, sont un peu plus réfringents que les globulins à l'état discoïde, ils sont entourés d'un halo plus brillant et plus marqué. La ressemblance de ces éléments avec des bactéries est si frappante à première vue que l'objection im-

médiate qui se présente à l'esprit est que l'on se trouve en présence d'une impureté microbienne. Prolongeons l'observation en chauffant progressivement de manière à atteindre une température de 45° ; lorsque nous allons atteindre 42 ou 43° nos bâtonnets vont changer d'aspect ; leur réfringence se modifie, ils deviennent plus pâles en même temps qu'ils prennent une forme discoïde, en un mot ils vont prendre l'aspect que nous leur avions vu dans nos premiers examens sans tenir compte de la température.

Il s'agit donc du même élément sous deux aspects différents. Sous l'influence de l'élévation de la température, nous allons voir se produire de véritables altérations morphologiques. Un certain nombre d'éléments vont s'agglutiner en amas plus ou moins volumineux, se fusionner ensemble et former des plaques absolument analogues à celles qu'on observe sur une goutte de sang cutané, examiné entre lame et lamelle. En même temps, les globulins qui restent isolés changent de réfringence, ils prennent une teinte légèrement grisâtre, et une substance granuleuse apparaît à leur intérieur. Leur contour devient irrégulier, épineux avec des prolongements filiformes.

Mettons immédiatement après la saignée un tube de sang paraffiné dans la glace fondante et examinons le plasma au bout de 20 minutes alors qu'un tube témoin à la température du laboratoire montre des globulins en bâtonnets. Nous allons pouvoir faire les constatations exactement inverses. Une goutte de plasma prise dans le tube refroidi montre des globulins avec la forme arrondie Faisons passer progressivement un courant d'eau tiédie. Lorsque le thermomètre marquera une température de 25°, nous constaterons que quelques éléments ont déjà repris l'aspect de bâtonnets : à la température de 38°, ils auront tous repris cette forme.

La température à laquelle ils ont été refroidis est de 8 à 10 degrés. Je préciserai ultérieurement le degré de température qu'il faut atteindre pour qu'ils perdent définitivement la propriété de revenir à leur forme allongée. En résumé, dans le plasma d'âne examiné sans addition d'aucun réactif à une température de 38° à

40°, les globulins ont l'aspect allongé qu'ils ont à l'intérieur des vaisseaux. Sous l'action d'une chaleur élevée (42°-43°), ils présentent des changements de formes qui ont des caractères de dégénérations. Un refroidissement modéré leur fait prendre temporairement une forme arrondie.

Cette propriété du globulin de changer de forme sous l'action de la température, de présenter *in vitro* à la température de 38° la forme qu'il a à l'intérieur des vaisseaux chez l'animal vivant, de s'altérer et d'être détruit à la température précise où meurent les autres éléments anatomiques de l'animal, cette propriété ne me paraît légitimer qu'une hypothèse : c'est qu'il s'agit d'éléments vivants.

Un certain nombre d'agents chimiques se comportent vis-à-vis des globulins de la même manière qu'une élévation thermique. Si à une goutte de plasma contenant des globulins vivants on ajoute, en évitant les causes d'erreur qui peuvent être dues à la variation de température, une très petite goutte d'eau distillée, les globulins prennent immédiatement leur forme contractée, irrégulière, finement granuleuse. Si au lieu de se servir d'eau distillée on se sert d'eau salée à 9 0/00, ils conservent leur aspect normal. Si l'on introduit quelques gouttes d'éther ou de chloroforme dans la chambre humide, ils ne tardent pas à s'altérer, et en quelques minutes ils ont pris le même aspect qu'avec l'eau distillée.

Les alcalis et les acides impriment des modifications rapides aux globulins : une trace d'ammoniaque transforme immédiatement les globulins en masses granuleuses, irrégulières, arrondies. L'acide acétique dans les mêmes conditions agit de même, mais moins brutalement.

Le chlorydrate de morphine à 1 0/00 fait prendre rapidement aux globulins le même aspect arrondi et contracté.

Dans les chapitres suivants, j'étudierai l'action d'un grand nombre de substances sur les globulins, mais les quelques exemples que je viens de donner suffisent à montrer que les globulins sont sensibles aux poisons protoplasmiques, à la manière des éléments vivants, leucocytes par exemple.

Examinés à une température de 38 à 40° dans le plasma frais, les

globulins sont animés de légères oscillations sur leur grand axe; en outre à certain moment on les voit se déplacer, s'incliner et s'avancer à droite ou à gauche ; parfois on les voit tourner en rayon de roue ; ces mouvements n'ont rien de commun avec des mouvements amiboïdes : il s'agit de déplacements en masse sans modifications morphologiques. Ils sont en réalité beaucoup plus intenses qu'ils ne le paraissent. En effet tous les éléments se déplaçant en même temps,il n'y a pas de point fixe dans le champ de la préparation qui puisse servir à mesurer le déplacement ; mais si on se sert d'une chambre claire et que l'on essaie de dessiner les globulins, on verra qu'ils sont dans un perpétuel déplacement et qu'il est presque impossible d'en saisir un immobile.

Ces mouvements sont des mouvements propres aux globulins et non des mouvements communiqués ; ils se font dans tous les sens et diffèrent en cela des mouvements qui pourraient être imprimés par la pesanteur. Ils sont liés à l'intégrité anatomique des globulins. On ne les observe ni sur les éléments refroidis ni sur les éléments chauffés au-dessus de 42° ; leur maximum d'intensité a lieu vers 38 ou 40° ; ils sont supprimés par les poisons protoplasmiques que j'ai indiqués plus haut : chloroforme, éther, cocaïne et quinine.

Les résultats que je viens d'exposer concordent pleinement avec ceux obtenus par la méthode d'observation intra-vitale.Dans les deux cas, le globulin a la forme de bâtonnet. Je ne discuterai pas pour l'instant la question de savoir quelle est la forme vraie du globulin dans l'espace ; j'insisterai seulement sur l'aspect qu'il présente aussi bien dans les vaisseaux de l'animal vivant que dans le plasma examiné avec notre méthode. Dans le péritoine du lapin, chez l'animal vivant, je lui ai vu incontestablement revêtir l'aspect d'un bâtonnet. Bizzozero a bien observé cet aspect, mais il le considère comme appartenant à une plaquette vue de profil.Eberth et Schimmelbusch représentent dans leurs figures le globulin sous forme d'un véritable bâtonnet,mais dans leurs descriptions ils se laissent impressionner par les aspects qu'ils ont observés *in vitro* et ils en font des disques. J'estime que dans cette question de morphologie les observations

in vivo doivent trancher le débat, et je conclurai que normalement dans les circonstances physiologiques le globulin revêt l'aspect d'un bâtonnet.

Les observations que je viens de rapporter, sous réserve de recueillir le sang ainsi que je l'ai indiqué, sont extrêmement faciles à répéter sur l'âne, et la méthode est infiniment plus simple que toutes celles qui ont été proposées jusqu'ici pour l'étude du globulin.

Chez le chien, l'observation des globulins présente plus de difficultés : le sang sédimente très lentement, il faut centrifuger, et sur un chien neuf on n'arrive guère qu'à voir des globulins avec la forme arrondie ; la prise de sang est faite dans une grosse artère telle que la fémorale ; l'artère doit être soigneusement isolée, disséquée aussi *proprement* que s'il s'agissait de faire une préparation anatomique, mais on doit éviter absolument de traumatiser l'artère avec une pince : l'artère doit être découverte et isolée sans avoir été touchée. Quand tout est prêt, on la soulève sur une sonde et,d'un seul coup, on y enfonce une aiguille d'acier de 2 à 5 millimètres de diamètre intérieur (suivant la taille de l'animal) soigneusement vaselinée.Le sang doit jaillir du premier coup : si l'aiguille se perd dans les gaines artérielles, s'il y a un hématome artériel, si le sang coule en dehors de l'aiguille, l'opération doit être recommencée sur un autre vaisseau.

Si au lieu de se servir d'un chien neuf, on se sert d'un animal anémié par une ou plusieurs saignées antérieures, on a un sang qui sédimente très vite : en cinq minutes on peut avoir du plasma débarrassé de globules rouges ; dans ce plasma il est aisé de voir tous les globulins isolés avec leur forme allongée. Mais même dans ce cas, il est difficile de prolonger l'observation plus d'un quart d'heure : les éléments s'arrondissent, s'agglutinent, deviennent granuleux.

Chez le chat, le lapin, le cobaye, il faut s'adresser à la carotide et utiliser une aiguille de verre paraffiné : les observations sont aussi limitées que chez le chien.

CHAPITRE III

ACTION DES DIFFÉRENTS ANTI-COAGULANTS IN VITRO SUR LES GLOBULINS

Parmi les nombreuses substances que l'on pouvait *à priori* supposer susceptibles d'action sur les globulins, les substances anti-coagulantes étaient certainement celles dont l'étude devait offrir le plus d'intérêt. Un certain nombre d'auteurs ont fait des globulins un agent coagulateur. Il était donc intéressant de voir si, en face des agents anti-coagulants, les globulins se comportaient d'une manière uniforme. D'autre part, les anti-coagulants ont été proposés comme moyen d'étude des globulins par Zimmermann, Mosen, Le Sourd et Pagniez, Chevrel et Roger.

Zimmermann (1846) reçoit un volume de sang de cheval dans un volume d'une solution de sulfate de magnésie ; les globulins ont la forme de vésicules arrondies de 4 à 5 μ, incolores, parfois réunies en groupe.

Mosen (1893) propose l'oxalate de soude à 2 0/00 : les éléments qu'il représente sont polymorphes, étoilés, ou arrondis, granuleux.

Marino (1905) a également utilisé l'oxalate.

Le Sourd et Pagniez (1906) reçoivent quelques centimètres cubes de sang de lapin dans un volume d'une solution de chlorure de sodium oxalaté de manière que le taux de l'oxalate dans le mélange soit de 2 0/00. Par une série de centrifugations successives, ces auteurs arrivent à isoler les hématoblastes sous forme de « très petits éléments qui, à l'état frais, se montrent serrés les uns contre les autres, réfringents, incolores, mesurant environ 1 à 2 μ chacun, de forme tantôt arrondie, tantôt allongée ou rameuse ». « L'expérience réussit également en remplaçant

l'oxalate de potasse par le fluorure de sodium comme agent anti-coagulant (1). »

Chevrel et Roger (1907) en recevant 4 à 5 centimètres cubes de sang de lapin dans 10 centimètres cubes de la solution suivante :

Chlorure de sodium.	8 grammes
Citrate de soude.	20 —
Eau distillée	1.000 —

n'arrivent également à isoler que des éléments extrêmement altérés.

Les différences morphologiques entre les globulins décrits par ces auteurs et les globulins tels que je les ai représentés dans le chapitre précédent s'expliquent, indépendamment de toute intervention de l'agent anti-coagulant, par la manière dont ces auteurs ont recueilli leur sang, sans précautions spéciales pour éviter l'action altérante des tissus, et aussi par le refroidissement (solutions non chauffées, centrifugations prolongées).

Quelle est, sur du plasma d'âne, obtenu dans les conditions indiquées plus haut, maintenu à l'abri du refroidissement à 38°, au contact de la paraffine, l'action des différents anti-coagulants (2) à la température de 38° ? Lorsqu'on fait tomber 45 centimètres cubes de sang d'âne dans 5 centimètres cubes d'une solution de fluorure de sodium à 2 ou 3 0/0, ce qui donne un sang fluoré à 2 ou 3 0/00, l'altération des globulins est instantanée, ils sont immobiles, ils

(1) Le Sourd et Pagniez, Un procédé d'isolement à l'état de pureté des hématoblastes du sang, *C. R. de l'Acad. des sciences*, 25 juin 1906. — Dans un travail ultérieur, postérieur à mes travaux avec M. Achard (*C. R. Soc. Biologie*, 23 mai 1908). Ph. Pagniez (L'état actuel de la question des plaquettes, etc. *Journal des maladies du cœur, des vaisseaux et du sang*, janvier 1909) établit une distinction entre les anti-coagulants, et écrit : Le fluorure de sodium semble altérer les plaquettes : c'est d'ailleurs déjà un fixateur des éléments.

(2) Dans toutes ces expériences, j'ai fait agir les solutions anti-coagulantes dans la proportion de 1 centimètre cube pour 9 centimètres cubes de sang. On verra dans le chapitre suivant que, dans ces conditions, la dilution n'intervient pas pour altérer les globulins, ainsi d'ailleurs que les concentrations moléculaires.

ont perdu leur forme allongée, ils sont irrégulièrement arrondis, parfois avec des prolongements : leur réfringence est modifiée. Ces résultats étaient à prévoir : on sait que le fluorure de sodium est un poison protoplasmique (Arthus). Il n'en est pas de même des citrate et oxalate alcalins qui conservent bien les propriétés des éléments vivants, en particulier des leucocytes : dans le sang citraté ou oxalaté, ces derniers conservent leur activité ; il en est de même en ce qui concerne les trypanosomes. Il était donc particulièrement indiqué d'étudier l'action de ces anti-coagulants sur les globulins.

Je reçois 45 centimètres cubes de sang d'âne dans 5 centimètres cubes d'une solution de citrate de soude à 10 0/0, ce qui donne un sang citraté à 10 0/00;dans ces conditions,je puis pendant plusieurs heures (jusqu'à 6 et 8 h.) maintenir les globulins avec les caractères morphologiques qu'ils ont dans le plasma frais : le citrate permet donc de prolonger l'intégrité morphologique des globulins : les globulins citratés réagissent aux variations thermiques, au chloroforme, absolument comme des globulins contenus dans le plasma pur ; mais,comme je viens de le dire,le maintien de l'intégrité anatomique des globulins n'est pas indéfini ; au bout de quelques heures les globulins citratés commencent à présenter des variations morphologiques ; le citrate n'agit donc pas comme fixateur ; il a simplement une action préservatrice, conservatrice.

Qu'arrive-t-il lorsque, sans faire varier le taux de la dilution sanguine, on fait varier le taux p. 100 du citrate ? Les expériences suivantes permettent de répondre à la question.

297. — *Sang d'âne* ayant déjà subi plusieurs saignées (veine altérée). Au bout de 10 minutes (plasma pur), les globulins étaient arrondis ; au bout de 90 minutes, ni coagulation ni agglutination.

Du sang a été immédiatement, au sortir du vaisseau, citraté à 5 et 10 0/00 et oxalaté à 2 0/00.

Au bout de 2 heures, le sang oxalaté 2 0/00 ou citraté à 10 0/00 contient des globulins absolument normaux.

Dans le sang citraté à 5 0,00, les globulins sont arrondis.

547. — *Sang d'âne* citraté 1 0/00 et 2 0/00 par addition à 90 centimètres cubes sang de 10 centimètres cubes solution de citrate à 1 et 2 0/0 dans

NaCl 9 0/00. Ane ayant subi de nombreuses saignées : veine altérée, le sang pur a coagulé en 1 h. 20 (paraffine 20°).

Echantillon citraté 1 0/00 (38°), coagule 1 h. 30.

Echantillon citraté 2 0/00 (38°), coagule 1 h. 30, presque tous les globulins normaux : pas d'agglutination (le plasma pur en goutte pendante a coagulé sans agglutination).

561. — *Sang d'âne*, veine altérée, saignée difficile, le sang pur a coagulé en 3 heures.

Sang citraté à 10, 5, 2,5, 1 0/00 par adjonction de 1 centimètre cube de citrate (les solutions à partir de 5 0/0 dans l'eau salée) à 9 centimètres cubes de sang.

Examen au bout de 1 h. 30 : à 5 et 10 0/00 les globulins sont normaux ; à 2,5 0/00 une partie seulement et légère agglutination.

L'échantillon citraté 1 0/00 était partiellement coagulé au bout de 60 minutes, mais, malgré la coagulation, les globulins étaient presque tous isolés et peu altérés (forme arrondie).

On voit qu'en diminuant le taux p.1000 du citrate on produit des altérations morphologiques des globulins ; le pouvoir conservateur du citrate diminue avec sa concentration dans le sang. Pour le sang d'âne, des concentrations de 10 et 5 0/00 permettent des observations prolongées. Parfois même, des concentrations plus faibles sont suffisantes. Le taux de citrate nécessaire varie avec la manière dont la saignée a été faite : avec une veine neuve, une saignée facile, il faut peu de citrate ; avec une veine altérée par des saignées antérieures, ou à la suite d'une saignée pénible, longue, il faut davantage de citrate. Tout se passe comme si le citrate neutralisait une substance nuisible, recueillie au cours de la saignée, cette substance étant d'autant moins abondante que la saignée a été plus rapide, plus facile.

L'oxalate de soude (5 cmc. d'oxalate à 2 0/0 pour 45 cmc. de sang) permet d'observer des globulins morphologiquement normaux, réagissant normalement au chloroforme, aux variations thermiques, et s'altérant au bout d'un temps plus ou moins long. On peut également employer l'oxalate de potasse ou d'ammoniaque.

Le chlorure de sodium, lorsqu'il a dans le sang une concentration de 5 0/0, suspend la coagulation. Si l'on fait tomber 15 cen-

timètres cubes de sang dans 5 d'une solution de chlorure de sodium à 20 0/0, on a un sang incoagulable : malgré la très forte concentration moléculaire, les globulins sont à peu près normaux, mais ce sang a le désavantage de sédimenter très lentement. De plus, il est à la limite des concentrations moléculaires que puissent subir les globulins et, pour peu qu'il y ait un excès de la solution chlorurée, ils présentent des formes d'altérations.

Le sulfate de soude à 25 0/0 (parties égales de sulfate et de sang) n'est pas complètement indifférent pour les globulins ; il n'empêche pas leur agglutination spontanée.

Dans les mêmes conditions, et aux mêmes doses, le sulfate de magnésie altère énergiquement les globulins, qui présentent des formes irrégulières, arrondies ou bien très allongées, filiformes, ou bien encore des formes étranglées en haltères.

On sait que le chlorure de calcium, qui est journellement employé comme agent susceptible d'activer la coagulation, jouit à une certaine concentration de propriétés anti-coagulantes. Dans 4 centimètres cubes de chlorure de calcium à 10 0/0, j'ai reçu 16 centimètres cubes de sang ; j'ai examiné les globulins au bout d'une demi-heure, ils étaient tous arrondis, mais isolés.

In vivo, la peptone est un agent anti-coagulant énergique ; *in vitro*, elle agit par un autre mécanisme et son action est beaucoup plus faible. Si on reçoit un volume de sang dans un volume de peptone à 30 0/0, le mélange est incoagulable, les globulins sont extrêmement altérés et même réunis en masses granuleuses.

L'extrait de sangsue est anti-coagulant, *in vitro*, *in vivo* ; je n'étudierai pour l'instant que son action *in vitro*. Je me suis servi de têtes de sangsues conservées dans l'alcool, mises à sécher à l'étuve à 38°, broyées dans un moulin à poivre et mises à macérer 24 ou 48 heures dans l'eau salée ; dans un certain nombre de cas, je me suis servi d'extrait préparé par ébullition. Toujours j'ai observé une altération considérable des globulins et leur agglutination.

J'ai étudié *in vitro* l'action du venin de cobra. 1 centigramme de venin de cobra desséché provenant de l'Institut Pasteur de

Lille a été dissous dans 10 centimètres cubes d'eau salée physiologique ; j'ai reçu 9 centimètres cubes de sang sur 1 centimètre cube de la solution ; au bout d'une heure de séjour à l'étude, le sang n'était pas coagulé, il était hémolysé, les globulins étaient irréguliers, de forme arrondie, finement granuleux.

Tels sont les résultats obtenus en faisant agir les substances anti-coagulantes sur le sang d'âne ; on peut diviser ces substances en deux groupes : les unes permettent de voir les globulins avec les caractères qu'ils ont dans le plasma pur et sur lesquels je me suis étendu dans le chapitre précédent (citrate et oxalate) ; d'autres les altèrent morphologiquement et leur impriment des modifications analogues à celles que l'on peut obtenir par des variations thermiques extra-physiologiques : fluorure, venin de cobra ; un certain nombre de ces derniers les agglutinent (extrait de sangsue).

J'ai répété les mêmes expériences sur le chien ; la question est d'autant plus importante que le chien est un animal qu'on se procure facilement, qui est beaucoup plus maniable que l'âne, et au point de vue de la technique expérimentale, il était de toute nécessité de fixer dans quelles conditions on pourrait utiliser le sang de chien.

Je me suis servi de chiens de 10 à 20 kilos, c'est-à-dire d'animaux à artères volumineuses ; j'ai utilisé le sang des fémorales, des axillaires et des carotides. L'artère doit être mise à nu avec un soin minutieux ; il faut éviter de déchirer les muscles,de couper des artérioles ou des veinules ; il faut que l'artère soit bien isolée de son adventice ; la plaie doit être absolument exsangue ; l'artère est soulevée sur une sonde, on enfonce d'un seul coup à son intérieur une grosse aiguille d'acier de 2 à 5 millimètres de diamètre intérieur, vaselinée ; le sang est dirigé dans un verre gradué, paraffiné, contenant une quantité déterminée de solution anti-coagulante tiédie. Une expérience prolongée (plus de 600 saignées) m'a montré l'importance capitale qu'il faut donner à la manière dont l'aiguille pénètre dans le vaisseau. Si l'aiguille se perd dans les gaines artérielles avant de pénétrer à l'intérieur, si on s'y reprend à deux fois pour faire la ponction, si l'animal

s'agite, les globulins sont immédiatement altérés ou bien le deviennent rapidement ; au début de mes recherches, il m'est même arrivé d'avoir une légère agglutination.

L'oxalate à 2 0/00 (10 cmc. de la solution anti-coagulante p. 90 de sang) m'a montré comme chez l'âne les globulins allongés, réguliers, mobiles, isolés. Il en est de même avec le citrate à 1 0/0. Oxalatés ou citratés, les globulins de chien présentent les mêmes variations morphologiques que ceux de l'âne sous l'influence des variations thermiques ou du chloroforme. La figure 2

Fig. 2. — Sang de chien citraté à 1 0/0, conservé 2 heures à l'étuve à 38°. — Examen à la température de 38°. — On a représenté la proportion exacte des globulins dans le plasma dilué à 1/10.

représente des globulins de chien citratés à 1 0/0 maintenus et observés à une température de 38°. La figure 3 représente des globulins du même animal, citratés à 1 0/0, et qui ont été mis

dans la glace pendant 30 minutes ; les éléments ont une forme générale arrondie.

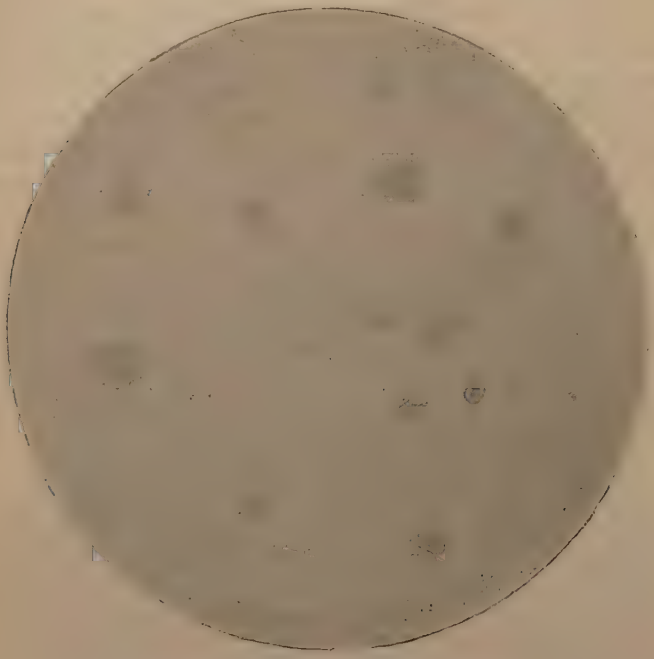


Fig. 3. — Globulins de chien citratés à 1 0/0, maintenus 30 minutes dans la glace fondante. — Forme contractée.

Voici quelques observations qui montrent bien que le rôle protecteur des citrates et oxalates est proportionnel à leur taux p. 100 dans le mélange : ce taux est plus élevé pour le sang du chien que pour le sang de l'âne.

320. — *Sang de chien* citraté à 10 0/00, 5 0/00, 2,5 0/00, oxalaté à 1 et 2 0/00, tous les échantillons contenant la même quantité de sang.

Sang citraté à 10 et 5 0/00, 1 h. 30, globulins normaux.

— 2,5 0/00, pas d'agglutination spontanée, mais globulins arrondis.

Sang oxalaté à 2 0/00, globulins normaux.

— 1 0/00, les 3/4 des globulins sont normaux, le reste arrondis.

320. — *Sang de chien* citraté à 10 0 00, 5 0/00, 2,5 0/00 en recevant 45 centimètres cubes de sang dans 5 centimètres cubes de citrate à 10 0/0 5 0/0, 25, 0/0. Les différentes solutions ont été obtenues par dilution du citrate à 10 0/0 avec de l'eau salée physiologique

Examens après 1 h. 30 m.

Sang citraté à 10 0/00, globulins normaux, allongés, mobiles.

— 5 0/00, mêmes résultats.

— 2,5 0/00, un quart des globulins normaux ; le reste arrondis, pas d'agglutination.

Du sang du même chien a été oxalaté à 1 et 2 0/00 dans les mêmes conditions, c'est-à-dire en employant 5 centimètres cubes de la solution anti-coagulante pour 45 centimètres cubes de sang, même temps.

Sang oxalaté 2 0/00, globulins normaux.

— 1 0/00, un certain nombre de globulins (1/4) sont altérés.

Sang fluoré à 3 0/00.

5 centimètres cubes de NaFl 3 0/0 + 45 centimètres cubes sang.

Tous les globulins sans exception sont contractés, polygonaux, irréguliers, finement granuleux, immobiles : un certain nombre d'amas de 15 à 20.

285. — *Sang de chien* recueilli directement dans deux verres : solution de citrate à 5 0/0.

N° 1. — 2,5 centimètres cubes citrate + 47,50 sang = 2,5 0/00 citrate.

N° 2. — 5 — + 45,00 — = 5 0/00 —

Au bout d'une heure, l'échantillon 1 contient de gros amas de globulins arrondis et contractés : dans le 2e, globulins de forme allongée, mais agglutinés.

564. — *Chien*, deuxième saignée.

Oxalate de K. à 4 0/0 et dilution à 2,1, et 0,50 0/0 par adjonction d'eau salée.

45 centimètres cubes sang + 5 centimètres cubes des quatre solutions oxalate.

L'examen donne les mêmes résultats en 60 minutes et 150 minutes.

Sang oxalaté 4 0/00 globulins normaux et isolés.

— 2 0/00 agglutination légère, globulins normaux.

— 1 0/00 à peu près comme 2 0/00.

— 0,50 0/00 agglutination forte : la moitié des globulins arrondis.

Je n'insiste pas sur l'extrait de sangsue, le fluorure de sodium, la peptone, le venin de cobra, qui sont également nocifs pour les globulins chez le chien et chez l'âne.

Tout récemment (juillet 1908), Larguier des Bancels (1) a fait connaître l'action suspensive sur la coagulation des ferrocyanures et ferricyanures alcalins, action qu'il rapproche de celle des citrates. J'ai fait quelques expériences avec le sang de chien. D'une manière générale, le ferrocyanure et le ferricyanure de potassium ont une action également suspensive sur l'agglutination des globulins, mais cette action est infiniment moins puissante que celle du citrate. Aux doses où je les ai employés, les globulins étaient altérés morphologiquement, et mes expériences sont insuffisantes à établir si cette altération est due à l'anti-coagulant lui-même ou à l'insuffisance de son action protectrice.

324. — *a*. Solution de ferricyanure de potassium à 10 0/0.

b. Solution de ferricyanure de potassium à 5 0/0 par dilution avec un volume d'eau salée d'un volume de *a*.

On reçoit dans 5 centimètres cubes de *a* et de *b* 45 centimètres cubes de sang de chien, tubes paraffinés et non paraffinés.

Dans le verre, le sang à 0,50 0/0 de ferricyanure coagule en 35 minutes, le sang à 1 0/0 n'étant pas coagulé au bout de 2 heures.

Dans le sang ferricyanuré à 1 0/0, au bout de 60 minutes les globulins sont presque tous en gros amas, dont quelques-uns occupent le champ du microscope presque dans son entier (immersion 1/12). L'agglutination est plus forte dans le verre que dans la paraffine.

Dans le sang citraté 1 0/0, pas la moindre agglutination.

325. — *Sang de chien.*

Ferrocyanure à 10 0/0.
— 5 0/0 par dilution avec eau salée.
Citrate à 5 0/0
— à 7,5 0/0

Dans 5 centimètres cubes des solutions précédentes, on reçoit 45 centimètres cubes de sang de chien.

Sang ferrocyanuré à 1 0/0 :
Tous les globulins sont arrondis et irréguliers, pas d'agglutination.

Sang ferrocyanuré à 0,50 0/0 :
Agglutination forte, très peu de globulins isolés.

Sang oxalaté à 2 0/00 :
Au bout de 2 heures, globulins absolument normaux.

Sang citraté à 0,5 0/0 :

(1) De l'influence des ferrocyanures et des ferricyanures alcalins sur la coagulation du sang (*C.R. de l'Académie des sciences*, 1908, t. 147, p. 266).

2 heures, agglutination légère ; globulins arrondis.

Sang citraté à 0,75 0/0 :

2 heures, pas d'agglutination.

On voit que le pouvoir protecteur contre l'agglutination des globulins des ferrocyanures et ferricyanures alcalins est beaucoup plus faible que celui du citrate : on remarquera aussi que ce pouvoir varie suivant le contact, verre ou paraffine ; il en est de même d'ailleurs avec les autres anti-coagulants.

Je n'ai fait à l'heure actuelle qu'un nombre très restreint d'observations sur l'action des anti-coagulants sur le sang d'autres animaux : ces expériences nécessitent une assez grande quantité de sang et nous avons déjà vu qu'il est très difficile sur de petits animaux comme le lapin ou le cobaye de faire de bonnes prises de sang. Cependant (prise de sang dans la carotide avec une aiguille de verre paraffinée), j'ai pu observer dans du sang citraté à 1 0/0, des globulins normaux avec leur forme allongée chez le lapin, le chat et le cobaye.

J'ai pu faire un certain nombre de constatations sur une brebis ; comme elles ne portent que sur un individu, je ne les généralise pas, mais elles mettent néanmoins bien en évidence l'importance du taux p. 100 de l'anti-coagulant employé. J'ai commencé mes examens avec des concentrations de citrate de 1 à 10 0/00, je n'ai pas pu voir de globulins normaux. Deux autres saignées en citratant à 10 0/00 ne m'ont pas donné de meilleurs résultats : ce n'est qu'en employant le citrate à 20 et 30 0/00 et l'oxalate à 4 et 6 0/00 que je suis parvenu à observer des globulins isolés.

Brebis, deux ans, gravide, 25 kil.

30 *octobre*. — Saignée de la fémorale droite.

Sang citraté à 1, 2,5, 5 et 10 0/0 (45 cmc. de sang + 5 cmc. solution anti-coagulante).

Sang oxalaté 2 0/00.

Les globulins sont presque tous réunis en masses granuleuses (examen : 120 minutes) ; sédimentation très lente.

4 *novembre*. — Saignée de la fémorale gauche.

Sang citraté 10 0/00, globulins très altérés, irréguliers, granuleux, agglutination légère, 60 minutes.

8. — Saignée de l'axillaire droite.

Sang citraté 10 0/00 et oxalaté 2 0/00.

Mêmes résultats.

10. — Saignée de l'axillaire gauche.

Sang oxalaté à 4 0/00 (oxalate de K. à 4 0/0, 5 cmc. pour 45 cmc. sang) et citraté 2 0/0 (5 cmc. citrate à 20 0/0 pour 45 cmc. sang).

Examen 180 minutes, *oxalate* à 4 0/00, globulins isolés, arrondis ou ovalaires : il existe de très rares spécimens allongés.

Citrate à 2 0/0, pas d'agglutination, mais les globulins sont arrondis et beaucoup ont des bords irréguliers.

12. — Saignée de la carotide.

Sang citraté 3 0/0 (5 cmc. citrate 30 0/0 + 45 cmc. sang).

Sang oxalaté 6 0/00 (5 cmc. oxalate AzH^4 6 0/00 + 45 cmc. sang).

Examen 1 h. 30, sédimentation très faible.

Sang oxalaté 6 0/00. Tous les globulins sont isolés : les 2/3 sont arrondis et ovalaires, 1/3 de forme allongée.

Sang citraté 3 0/0, globulins isolés, mais moins bien conservés qu'avec l'oxalate.

Ces recherches sur l'action des anti-coagulants permettent de faire un certain nombre de remarques. Il n'y a pas, comme cela avait été avancé, de parallélisme entre l'action anti-coagulante d'une substance et son action conservatrice des globulins : c'est un point sur lequel j'aurai l'occasion de revenir. Le taux p. 100 d'une même substance anti-coagulante, nécessaire à la conservation des globulins, varie avec les différentes espèces animales : il en faut plus pour le sang du chien que pour celui de l'âne. Enfin je tiens dès maintenant à faire remarquer que si les globulins citratés et oxalatés sont morphologiquement normaux, ils ne sont pas équivalents à des globulins contenus dans leur plasma : ils sont protégés contre l'action nocive et agglutinante de certaines substances (voir chapitre VI).

CHAPITRE IV

SURVIE DES GLOBULINS EN DEHORS DE L'ORGANISME. — INFLUENCE DE LA DURÉE, DE LA TEMPÉRATURE, DE LA CONCENTRATION MOLÉCULAIRE ET DE LA DILUTION

Dans les chapitres précédents, j'ai indiqué quelles étaient les raisons qui devaient faire considérer le globulin comme un élément vivant ; nous devons maintenant nous demander pendant combien de temps il est possible de le conserver avec ses caractères normaux en dehors de l'organisme ; en d'autres termes, quelle est la survie du globulin *in vitro* ? et quelles sont les différentes causes susceptibles de la faire varier ? Cette étude a un double intérêt : elle nous fera d'abord connaître certaines caractéristiques du globulin ; d'autre part, au point de vue technique, elle nous donnera des indications précieuses pour l'étude *in vitro* de l'action des agents physiques ou chimiques.

J'ai déjà indiqué brièvement l'action si spéciale de la température, action qui n'avait pas été signalée jusqu'ici. Nous avons vu dans notre historique que Hayem propose comme température optima d'observation de ses hématoblastes la température de 0° (1) ; Le Sourd et Pagniez font remarquer que les hématoblastes chauffés à 58° semblent ne pas différer morphologiquement des hématoblastes frais (2).

Cette absence de modification de forme, sous l'action de la chaleur, ne s'observe que sur les globulins déjà altérés par une cause quelconque (contact des tissus, contact du verre, dilution).

(1) A la température de 0°, l'agglutination des globulins ne se fait pas sous l'action de la peptone (voir chap. VI) ; il doit en être sans doute de même en ce qui concerne les agglutinines des tissus.

(2) Le Sourd et Pagniez, Du rôle des hématoblastes dans la rétraction du caillot, *C. R. Soc. Biologie*, 21 juillet 1906.

En effet, à l'état de cadavre, le globulin est susceptible de supporter des variations de température considérables sans modifier sa forme ; j'ai pu, dans du sang citraté, refroidir des globulins à 0°, les réchauffer ensuite jusqu'à 80° sans leur imprimer aucune modification morphologique. Il n'en est pas de même du globulin vivant, qui réagit à des variations de température beaucoup moins étendues. L'étude de l'influence des variations thermiques sur le globulin est très délicate à faire sur le plasma d'âne ; on ne peut guère étudier ainsi que l'influence de l'abaissement thermique qui a une action retardatrice sur la coagulation. J'ai pu cependant, à plusieurs reprises, dans le plasma d'âne pur, étudier l'influence de l'abaissement thermique suivi du retour à 38°. Relativement à la survie des globulins dans le plasma pur, j'ai renoncé à l'emploi de l'étuve à 38°, mais j'ai constaté de la façon la plus nette que la température avait une influence considérable sur la survie des globulins *in vitro*. Le refroidissement est relativement lent dans des tubes paraffinés ; il est naturellement d'autant plus lent que la température extérieure est plus élevée. Au cours des fortes chaleurs de l'été, j'ai pu observer des globulins vivants chez l'âne jusqu'à deux heures après la saignée ; en hiver, la survie est toujours beaucoup plus courte.

L'étude des globulins citratés et oxalatés a l'avantage de mettre à l'abri de la coagulation et permet des observations beaucoup plus longues.

Je me suis servi soit de sang d'âne, soit de sang de chien, citraté à 1 0/0, oxalaté à 2 0/00. Les proportions de solution anti-coagulante étaient toujours les mêmes : 10 centimètres cubes pour 90 centimètres cubes de sang. J'ai fait un grand nombre d'observations dont voici les principales conclusions. A l'étuve à 38°, au bout de 4 à 6 heures, presque constamment les globulins se présentent avec leurs caractères normaux, c'est-à-dire allongés, mobiles, isolés. Au bout de 24 heures, les exemplaires normaux sont plus rares, le quart ou le tiers seulement ; au bout de 30 heures ils sont exceptionnels ; je n'en ai jamais vu au bout de 48 heures. A la température du laboratoire, la survie a toujours été beaucoup plus courte qu'à 38° ; au bout d'une heure ou deux

il y a toujours des altérations, et au bout de 3 ou 4 heures, même en été, il n'existe plus de globulins normaux.

La figure 4 représente des globulins de chien citratés à 1 0/0,

Fig. 4. — Globulins de chien citratés à 1 0/0, conservés 48 heures à la température du laboratoire. — Forme contractée.fins prolongements sur les bords : à rapprocher des figures de mouvements amiboïdes de certains auteurs.

conservés 48 heures à la température du laboratoire ; les éléments sont arrondis dans leur ensemble, avec des prolongements sur les bords ; leur aspect général est étoilé. Certains auteurs ont assimilé ces prolongements à des pseudopodes ; il ne saurait s'agir d'autre chose que d'altérations morphologiques : ces prolongements qui ne sont pas susceptibles de retrait, qui se voient en goutte pendante, qui ne sont pas influencés par la température, ne s'observent que sur des globulins profondément modifiés dans leur réfringence, finement granuleux, parfois vacuolés.

Les globulins résistent très peu aux élévations thermiques : au bout de quelques minutes de séjour à l'étuve à 50° ils sont tous

arrondis, irréguliers, finement granuleux et ne sont plus susceptibles de revenir à une forme normale par le séjour à une température de 38°.

Les globulins refroidis sont susceptibles, par un chauffage progressif, de reprendre leurs caractères normaux, à condition toutefois que l'abaissement thermique n'ait pas été trop marqué. Les globulins congelés sont définitivement morts ; il en est de même des globulins refroidis à 0°. De 5° à 10°, il y a toujours un certain nombre d'éléments qui survivent : au delà de 10° presque tous les éléments sont susceptibles de revenir à leur forme normale. Le degré de l'abaissement thermique n'est pas le seul facteur à envisager dans ces expériences : il faut tenir un compte important de la rapidité avec laquelle il se produit. Pour un même abaissement, les globulins résistent d'autant plus que celui-ci aura été plus lent.

Enfin je ne saurais trop répéter pour ceux qui voudront reproduire ces expériences,qu'un autre facteur a une influence considérable sur la survie des globulins : c'est la manière dont a été faite la saignée ; c'est un facteur qui peut paraître minime, négligeable : en réalité la manière plus ou moins oblique, plus ou moins directe dont le trocart pénètre dans le vaisseau a une importance capitale,et il est possible de prévoir quelle sera la survie des globulins par la manière dont a été faite la saignée.

Les expériences suivantes complètent et précisent les données que je viens d'exposer :

237. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00. A l'étuve à 11 heures du matin, dans un verre paraffiné et dans un autre non paraffiné.

A 4 heures de l'après-midi, dans le verre paraffiné, tous les globulins sont normaux, allongés, mobiles. Dans le tube non paraffiné, les exemplaires normaux sont tout à fait rares : le plus grand nombre a une forme arrondie : d'autres ont des prolongements qui simulent des flagelles : il y en a en forme d'haltères très allongées.

253. — *Sang de chien* (4e saignée) oxalaté à 2 0/00.

Saignée à 11 heures le matin. Examen à 4 heures de l'après-midi.

Tube à l'étuve à 38° : globulins absolument normaux, allongés, réguliers, mobiles.

Tube à l'étuve à 50° : tous les globulins sans exception sont arrondis, à bords irréguliers, finement granuleux ; il y a des amas énormes.

Tube à la température du laboratoire : il n'y a qu'un petit nombre d'éléments normaux, il y a des formes étirées, étranglées.

296. — *Sang d'un chien* ayant subi 2 saignées, citraté à 1 0/0.

Deux tubes de 10 centimètres cubes sont exposés à la température extérieure qui a oscillé entre 8° et 9°.

Tube A. — 15 minutes à l'extérieur : la moitié des globulins sont arrondis.

50 minutes, les 9/10 des globulins ont pris la forme arrondie, le tube est rentré au laboratoire (17°) puis mis à l'étuve à 38°.

75 minutes, les 3/4 des globulins ont leur aspect normal.

120 minutes, globulins normaux.

Tube B. — 60 minutes, 8-9°, globulins arrondis, un certain nombre de formes irrégulières.

75 minutes, le tube est réchauffé et mis à l'étuve.

120 minutes, la moitié des globulins ont leur aspect normal.

Tube C. — A la température de 17° (laboratoire), tous les globulins sont arrondis en 120 minutes.

305. — Sang de chien citraté à 1 0/0. Saignée faite à 3 h. 10.

Le tube de sang est mis à l'extérieur à 3 h. 40 ; un tube témoin contenait un thermomètre.

La température, à 4 h. 40, était de 17° : les 2/3 des globulins sont normaux, le reste arrondi.

A 5 h. 30, température 14°.

A 6 h. 10, température 12°, il y a encore 1/4 de globulins normaux. On ajoute de la glace autour du tube, et à 6 h. 20 la température est de 5° : presque tous les globulins sont arrondis, il y a aussi des formes altérées très longues, plus de deux fois la longueur normale ; quelques-unes présentent des renflements à 1 ou 2 extrémités.

En somme, à une température de 38° les globulins ont une forme allongée, mobile, régulière : au bout d'un temps plus long à la même température, 24 heures par exemple, ils présentent des altérations morphologiques que nous devons préciser. Leur réfringence est modifiée et le halo qui les entoure beaucoup moins net. Leur forme générale est arrondie, leurs contours sont irréguliers avec de petites aspérités ou de fins prolongements : certains ont un aspect polygonal, anguleux ; leur plus grand diamètre est sensiblement plus petit que dans leur forme normale allongée. Il existe également des formes d'altérations longues. Ces formes ne s'observent que très rarement sur des globulins altérés par une variation thermique considérable : elles s'ob-

servent surtout sur des globulins maintenus à une température de 20 à 38° et qui se sont altérés, soit spontanément sous l'influence du temps, soit artificiellement à la suite de l'introduction de substances étrangères. Il existe des globulins effilés se terminant par un pseudo-flagelle et pouvant simuler, pour un observateur ignorant du globulin et de ses altérations morphologiques, un flagellé : ces formes ont été signalées par L. Nattan-Larrier sur des lames desséchées et fixées, et par Leroy D. Swingle, dans le sang citraté. D'autres globulins sont transformés en rubans très allongés, finement granuleux : quelques éléments enfin peuvent être vacuolés. La densité des globulins ainsi altérés morphologiquement est augmentée : ils sédimentent rapidement, alors que les globulins frais restent en suspension et résistent longtemps à la centrifugation.

Je n'ai jamais observé de formes de division, ni pu obtenir de culture de globulins *in vitro*. Quelques formes d'altérations peuvent donner l'impression d'une division, on peut voir des globulins étranglés par le milieu, mais leur réfringence et leurs bords irréguliers ne laissent aucun doute sur la signification de pareilles figures. Les formes d'accolement par agglutination de deux éléments peuvent également en imposer à un observateur non prévenu pour une forme de division ; nous verrons ultérieurement comment on peut faire apparaître ces figures avec les agents agglutinants.

Ces faits ne prouvent nullement que les globulins soient incapables de se diviser : en effet, j'ai opéré non seulement en dehors de l'organisme, mais encore dans des milieux décalcifiés ou à calcium inactivé, et l'on sait le rôle important que joue le calcium dans de nombreux phénomènes biologiques.

La concentration moléculaire peut aussi intervenir pour altérer les globulins : j'ai fait un certain nombre de déterminations cryoscopiques sur des plasmas citratés ou oxalatés dont les globulins étaient normaux ; pour les sangs oxalatés j'ai trouvé des chiffres voisins de — 0°56 ; pour les plasmas citratés, des chiffres un peu plus forts, de — 0°60 à — 0°70.

Les globulins sont cependant capables de supporter des con-

centrations moléculaires beaucoup plus élevées ; je les ai trouvés à peu près normaux dans le plasma salé à 5 0/0 (NaCl à 20 0/0 5 cmc. + 15 cmc. sang) qui congèle bien au-dessous de — 2°. Mais c'est là la concentration maxima limite. Avec des concentrations plus élevées on produit des altérations des globulins et on arrive à avoir de petites masses granuleuses, irrégulières, qu'il est impossible d'identifier, et qui semblent résulter de leur éclatement.

Les globulins sont beaucoup plus sensibles aux abaissements de concentration moléculaire ; on peut admettre qu'à Δ — 0° 45 ils succombent presque instantanément.

En tenant compte des observations précédentes, c'est-à-dire de la nécessité d'opérer à une température de 38°, en milieu iso ou hypertonique, je me suis demandé jusqu'à quel point on pouvait diluer le plasma sans amener d'altérations des globulins. En un mot, je me suis proposé de rechercher si la déplasmatisation des globulins était possible. On sait (chapitre I) que cette déplasmatisation a été réalisée par Mosen, Le Sourd et Pagniez, mais ces auteurs ont isolé des éléments profondément altérés, irréguliers, polymorphes. L'altération de ces globulins déplasmatisés est-elle due à la seule déplasmatisation ou bien à d'autres influences qu'ont négligées ces auteurs ? (température, action des tissus et du verre).

Lorsqu'on dilue du plasma citraté, avec de l'eau salée isotonique, on produit non seulement des altérations des globulins, mais encore l'agglutination de ces éléments.

Par suite de la dilution, le taux pour cent du citrate est devenu insuffisant à protéger les globulins contre les substances empruntées aux tissus. J'ai donc pratiqué mes dilutions avec des solutions chlorurées, citratées ou oxalatées, de manière à ne pas faire varier le taux du citrate et de l'oxalate dans le mélange. J'ai pris naturellement le plus grand soin d'éviter toutes causes d'erreurs dues à l'abaissement thermique. Lorsqu'à 8 centimètres cubes d'eau salée citratée à 1 0/0, on ajoute 2 centimètres cubes de sang citraté, la mort des globulins est instantanée. A 5 p. 5, elle est un peu plus lente ; à 6 p. 4 de sang les altérations sont également

très nettes. Les résultats sont les mêmes lorsqu'on se sert de l'oxalate. On remarquera dans les quelques expériences que je rapporte ci-dessous, qu'en faisant les dilutions avec des solutions hypertoniques, on produit la destruction des globulins :

299. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.

NaCl 9 0/00. . . . . 90 centimètres cubes
Citrate 10 0/0. . . . . 10 —

A. — 5 centimètres cubes sang + 5 centimètres cubes solution.
B. — 2 — + 8 —

En A, au bout de 60 minutes presque tous les globulins sont arrondis et irréguliers : les exemplaires normaux sont tout à fait rares.

En B, tous les éléments sont très altérés.

304. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.

NaCl 9 0/00. . . . . 90 centimètres cubes
Citrate 10 0/0. . . . . 10 —

Δ du mélange : — 0°,82

A. — 8 centimètres cubes sang + 2 centimètres cubes solution
B. — 6 — + 4 —
C. — 4 — + 6 —
D. — 2 — + 8 —

En A, au bout de 50 minutes, les globulins sont normaux.

En B, au bout de 50 minutes, les 3/4 sont arrondis et irréguliers.

En C, au bout de 45 minutes, un très petit nombre d'éléments ont leur forme normale.

En D, au bout de 45 minutes, ils sont tous arrondis et irréguliers.

259. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Solution A : Oxalate de soude à 2 0/0 . 10 centimètres cubes.
Eau. . . . . 90 —
Solution B : Oxalate de soude à 2 0/0. . 10 —
Chlorure de sodium à 20 0/0. 90 —

A. — N° 1 5 cmc. solution A + 20 cmc. sang, Δ — 0°,48.
N° 2 10 — + 15 — Δ — 0°,35.
N° 3 15 — + 10 —

Au bout de 30 minutes le tube n° 1 contient encore quelques globulins normaux : le plus grand nombre est déformé ; dans le tube n° 2, tous les globulins sont contractés et irréguliers : il y a des amas. Dans le tube n° 3, les lésions dégénératives sont encore plus marquées.

B. — N° 1 5 cent. cubes de la solution B + 20 cent. cubes sang.
N° 2 10 — + 15 —
N° 3 15 — + 10 —

Le tube n° 1 au bout de 30 minutes contient des globulins normaux.

Dans le tube n° 2, tous les globulins sont contractés et irréguliers : il y a des amas. Le tube n° 3 contient des débris qu'il est impossible d'identifier.

280. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.

Solution A : NaCl 9 0/00 . . . . . 90 centimètres cubes.
Citrate de soude 10 0/0. . . . . 10 —

8 centimètres cubes solution + 2 centimètres cubes sang.

Au bout de 30 minutes : globulins arrondis, irréguliers, déformés.

259. — *Globulins de chien* oxalatés à 2 0/00.

On fait agir les deux solutions suivantes, l'une hypotonique, l'autre hypertonique, mais oxalatées au même taux 2 0/00.

A. Oxalate de soude à 2 0/0. . . . . 10 centimètres cubes.
Eau. . . . . 90 —
B. Oxalate de soude à 2 0/00 . . . . . 10 —
Eau salée à 20 0/0. . . . . 90 —

A. — 5 cmc. solution A + 20 cmc. sang : Δ — 0° 48.

Au bout de 25 à 30 minutes on trouve avec peine quelques globulins normaux.

10 cmc. solution A + 15 cmc. sang Δ — 0° 35.
15 — + 10 —

Tous les globulins sont irréguliers et arrondis.

B. — 5 centimètres cubes solution B + 20 centimètres cubes sang.

Globulins normaux au bout de 30 minutes.

10 centimètres cubes solution B + 15 centimètres cubes sang : globulins irréguliers et arrondis.

15 centimètres cubes solution B + 10 centimètres cubes sang, débris et amas inclassables.

Je n'ai pas obtenu de meilleurs résultats avec le liquide de Fleig. J'ai également expérimenté le liquide de Le Sourd et Pagniez ; en évitant les causes d'erreur dues à la saignée, à la température, en employant parties égales de sang et de liquide, j'ai toujours observé une altération morphologique des globulins.

367. — *Sang d'âne.*

A. — 1 centimètre cube citrate 10 0/0 + 9 centimètres cubes sang.

B. — 5 centimètres cubes liquide Le Sourd et Pagniez, + 5 cmc. sang = oxalate 2 0/00, 60 minutes à 38°.

En A, globulins presque tous normaux.

En B, globulins irréguliers, presque tous contractés.

Dans l'expérience suivante, j'ai étudié comparativement le liquide de Le Sourd et Pagniez et le liquide de Sacerdotti :

Citrate	0,50
NaCl	0,50
Eau	100,00

qui s'emploie dans les mêmes conditions de dilution.

562. — *Sang d'âne*, coagulant spontanément en 30 minutes.

1 centimètre cube citrate 5 0/0 + 9 centimètres cubes sang = citrate 5 0/00.

5 centimètres cubes liquide Le Sourd et Pagniez + 5 centimètres cubes sang.

5 centimètres cubes liquide Sacerdotti + 5 centimètres cubes sang.

Les liquides étaient à 38°.

Examen après 60 minutes :

Citrate 5 0/0, globules normaux et isolés.

Liquide Le Sourd et Pagniez, 1/4 seulement des globulins normaux : le reste de forme arrondie, avec quelques formes d'altérations longues.

Liquide Sacerdotti, tous les globulins sont arrondis.

Le liquide de Le Sourd et Pagniez contient un taux d'oxalate suffisant, 2 0/00 dans le mélange avec le sang ; le liquide de Sacerdotti donne un taux de 2,50/00 de citrate, dose peut-être insuffisante pour le chien, mais largement suffisante pour l'âne. Pour expliquer les altérations morphologiques des globulins d'âne dans les expériences que je viens de rapporter, le taux de citrate ou d'oxalate n'est pas intervenu ; il en est de même de la concentration moléculaire et de la température : je crois donc que ces altérations relèvent de la dilution du plasma : ces faits me paraissent devoir entrer dans l'explication des altérations morphologiques des globulins déplasmatisés.

Un certain nombre de notions se dégagent des faits que je viens d'exposer. *In vitro* les globulins ont une survie limitée et il paraît impossible de les sortir de leur plasma auquel ils semblent étroitement adaptés. La concentration moléculaire joue un certain rôle sur leur survie, mais le taux des substances cristalloïdes ne doit pas être seul pris en considération, il faut encore tenir compte probablement des substances colloïdales (albumines du plasma).

CHAPITRE V

MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DES GLOBULINS SOUS L'INFLUENCE DES AGENTS CHIMIQUES

Un certain nombre de substances ont la propriété d'altérer morphologiquement les globulins lorsqu'on les introduit dans le plasma. Le nombre de ces substances est considérable et la liste pourrait en être encore allongée ; le résultat des recherches auxquelles je me suis livré avec M. Achard, et qui ont été déjà sommairement exposées, permet de les diviser en deux groupes selon qu'elles agglutinent ou n'agglutinent pas ces éléments. Le groupe agglutinant est représenté par les solutions colloïdales ; le groupe non agglutinant par les solutions vraies, d'électrolytes ou de non électrolytes. Je vais exposer séparément l'action de ces deux groupes de substances, mais l'étude expérimentale en a été faite simultanément sur les mêmes sangs, les deux séries de recherches se tenant mutuellement lieu de témoin.

Les recherches que je vais exposer sur les solutions non colloïdales ont été faites sur du sang de chien, citraté ou oxalaté, recueilli avec la technique habituelle, maintenu à 38°, en milieu paraffiné, examiné en chambre humide, à 38°, sous lamelle vaselinée. J'ai ajouté le plus souvent 1 centimètre cube de la solution étudiée à 9 centimètres cubes de plasma : j'ai évité les causes d'erreur qui auraient pu résulter de variations trop étendues de la concentration moléculaire.

Le sublimé, l'arsénite de soude ont à l'égard des globulins les propriétés coagulantes qu'ils exercent sur le protoplasma en général.

290. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.
Solutions de sublimé à 1 0/0 et à 1 0/00 dans l'eau salée à 7 0/00.

A. — 1 cmc. de sublimé à 1 0/0 + 9 cmc. sang = 1 0/00.
B. — 1 cmc. de sublimé à 1 0/00 + 9 cmc. sang = 1 0/000.
Au bout de 30 minutes, en A tous les globulins sont arrondis, irréguliers, granuleux ; en B, il existe encore environ un quart de globulins à peu près normaux.

257. — *Sang de chien* oxalaté.
Solution d'arsénite de soude à 1 0/0 dans l'eau salée.
1 cmc. + 24 cmc. de sang = 1 p. 2.500.
Au bout d'une heure, globulins tous arrondis, irréguliers.

Le tannin agit un peu moins énergiquement.

Parmi les alcaloïdes, la morphine est un des plus actifs : à 1 p. 2.500, au bout d'une heure tous les globulins sans exception ont une forme arrondie, à bords plus ou moins irréguliers. Avec le sulfate de strychnine et le chlorhydrate de cocaïne à 1 0/00, on produit les mêmes altérations de forme qu'avec la morphine. Mais avec des doses plus faibles de strychnine et de cocaïne, l'altération n'est pas généralisée comme avec la morphine, la moitié des éléments échappent à l'action de l'alcaloïde et conservent leurs caractères normaux.

Le sulfate d'atropine 1 p. 2.500 est inactif ; à 1 0/00 il n'agit que sur un certain nombre d'éléments.

Le nitrate d'aconitine est des plus actifs.

Sang de chien citraté à 1 0/0.
Solutions de chlorhydrate de morphine, de cocaïne, de sulfate de strychnine et d'atropine à 1 0/0 dans l'eau salée 7 0/00. Durée de l'expérience, 1 heure.

Morphine :
1 cmc. pour 9 cmc. de sang = 1 0/00.
1 — 24 — = 1 p. 2.500
Tous les globulins sont arrondis, irréguliers, immobiles.

Cocaïne :
1 cmc. pour 9 cmc. de sang.
1 — 24 —
Les altérations sont un peu moins marquées qu'avec la morphine ; à 1 p. 10, il y a quelques éléments allongés ; à 1 p. 25, presque la moitié des éléments normaux.

Atropine :
1 cmc. pour 9 cmc. de sang.
1 — 24 —

A 1 p. 2.500 les globulins sont intacts ; à 1 0/00 la moitié sont altérés.

Strychnine :

1 cmc. pour 9 de sang.

1 — 24 —

A 1 0/00 tous les globulins sont contractés, irréguliers, immobiles.

A 1 p. 2.500 il y en a à peu près la moitié d'éléments normaux.

508. — *Sang de chien* (deuxième saignée).

Oxalaté 2 0/00 (oxalate Na dans NaCl 9 0/00).

Solutions aqueuses de tannin à l'alcool, à 0 50 0/0, nitrate d'aconitine à 1 0/0.

9 cmc. sang + 1 cmc. tannin = 1 p. 2.000. Au bout de 60 minutes tous les globulins sont arrondis, irréguliers, granuleux.

9 cmc. 8, sang + 0 cmc., 2 tannin : 1 p. 10.000. Les altérations sont beaucoup moins marquées ; il y a, après 60 minutes, un quart des éléments subnormaux.

9 cmc. sang + 1 cmc. aconitine : 1 0/00. Au bout de 60 minutes, tous les globulins sont arrondis.

9 cmc. 8 sang + 0 cmc., 2 aconitine : 1 p. 10.000. Au bout de 135 minutes, tous les globulins sont arrondis.

J'ai étudié comparativement l'action de l'antipyrine et de la quinine ; à 1 p. 250, l'antipyrine est inactive ; il faut atteindre la proportion de 0,50 et 1 0/0 pour amener la mort des globulins ; la quinine est autrement active : à 1 p. 2.500 en 30 minutes (fig. 5), à 1 p. 5.000 en 1 heure, elle amène la mort de tous les globulins. Cette action de la quinine sur les globulins me paraît intéressante à rapprocher non seulement de son action toxique sur les leucocytes (Binz), mais encore et surtout de l'action éminemment toxique qu'elle exerce sur les organismes unicellulaires. La quinine n'agit pas sur les globulins oxalatés ; les sels de quinine sont, en effet, précipités par l'oxalate.

L'atoxyl se comporte comme l'antipyrine. Le salicylate de soude m'a paru à peu près inoffensif.

201. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.

Solution de chlorhydrate neutre de quinine à 0,50 0/0 dans l'eau salée à 7 0/00.

1 centimètre cube de quinine pour 24 de sang = 1 pour 5.000.

Au bout de 30 minutes, les globulins sont normaux. Au bout de 60 minutes, ils sont arrondis, irréguliers, immobiles.

Solution d'antipyrine à 10 0/0 dans l'eau salée à 7 0/00.

1 centimètre cube d'antipyrine pour 24 de sang = 4 0/00.
Au bout de 30 et 60 minutes, les globulins sont parfaitement conservés.

198. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.
On fait agir 30 minutes une solution de chlorhydrate neutre de quinine à 1 0/0 dans la solution de NaCl à 7 0/00.
1 centimètre cube solution de quinine pour 20 de sang = 1 p. 2.000.
Tous les globulins sans exception sont arrondis, irréguliers, immobiles.

207. — *Sang de chien* citraté.
Solution d'antipyrine à 10 0/0 dans l'eau salée à 7 0/00.
A. — 1 centimètre cube antipyrine pour 24 de sang = 1 p. 250.
B. — 2,5 — 22,5 — = 1 0/0.
En A, au bout de 30 et 60 minutes globulins normaux. En B, même temps, une partie seulement des globulins sont normaux.
Atoxyl dans l'eau salée à 7 0/00.
1 centimètre cube à 10 0/0 pour 25 centimètres cubes de sang = 1 p. 250.
1 — 1 0/0 — 25 — = 1 p. 2.500.
Après 60 minutes globulins normaux dans les deux tubes.

208. — *Sang de chien* citraté.
Antipyrine.
5 centimètres cubes de la solution d'antipyrine à 10 0/0 pour 25 sang = 2 0/0.
Au bout de 1 heure, globulins irréguliers, déformés, avec quelques petits amas.
Atoxyl. Mêmes conditions : globulins ronds, immobiles.
Chlorhydrate neutre de quinine dans l'eau salée.
2 centimètres cubes 5 de quinine à 1 0/0 pour 22,5 de sang = 1 0/00.
Tous les globulins sont ronds, immobiles (examen au bout d'une heure).

Le glucose, la mannite à 2 0/0 altèrent les globulins ; le saccharose est moins nocif.

L'urée agit, mais à des doses bien supérieures à celles où on la rencontre dans le sang.

Le carbonate de soude (1/10.000) est inoffensif.

240. — *Sang de chien* oxalaté.
Solution de carbonate de soude à 1 0/00 sur l'eau salée.
1 centimètre cube carbonate pour 9 de sang = 1 p. 10.000.
Au bout de 2 heures les globulins sont normaux.
Salicylate de soude, Δ — 0°,56.
2 centimètres cubes pour 8 de sang.
Au bout de 2 heures les globulins sont normaux.

308. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/0.

Solution d'urée à 20 0/0.

A. — 1 centimètre cube urée + 9 centimètres cubes sang 2 0/0 d'urée.

B. — 2 — + 8 — 4 0/0 —

1 h. 30. — En B, tous les globulins sont immobiles : les uns arrondis, contractés, à bords irréguliers ; d'autres sont très allongés avec des prolongements irréguliers ou étranglés en haltères. Pas d'agglutination. En A, les altérations sont un peu moins intenses.

Saccharose à 20 0/0.

Glucose —

Mannite —

Durée du contact 1 h. 15.

9 centimètres cubes sang oxalaté + 1 centimètre cube saccharose 20 0/0 : 2 0/0.

La moitié des globulins normaux, le reste contracté : pas d'agglutination.

9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. glucose.

Presque tous les globulins arrondis, pas d'agglutination.

9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. mannite.

Tous les globulins sont arrondis, irréguliers ; pas d'agglutination.

142. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.

Solution équimoléculaire d'urée et NaCl.

2 centimètres cubes solution + 18 centimètres cubes sang.

Au bout de 75 minutes globulins longs et mobiles.

Δ du mélange — 0°70.

Urée du mélange 1,41 0/00.

J'ai étudié l'action comparée de l'iodure et du bromure de potassium en solution isotonique. L'iodure à 2 0/00, le bromure à 1 0/00 produisent la forme arrondie et contractée des globulins. C'est là une action intéressante à opposer à celle du chlorure de sodium, totalement inactif dans les mêmes circonstances, et qui ne peut être expliquée par une action purement physique, mais pour l'explication de laquelle il est nécessaire de faire intervenir l'irritabilité des globulins.

Le cyanure de potassium 1/25.000 est extrêmement actif.

236. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/0.

Solution d'iodure de potassium Δ = — 0°,56 (2,1 0/0).

A. — 1 centimètre cube d'iodure pour 9 de sang = 0,21 0/0.

B. — 1 — — 24 — = 0,08 0/0.

Au bout de 60 minutes tous les globulins sont arrondis, immobiles en A ; en B, les deux tiers sont encore normaux.

Solution de bromure de potassium — Δ — 0°,56 (1,08 0/0 environ).
A. — 1 centimètre cube de bromure pour 9 de sang = 0,108 0/0.
B. — 1 — — 24 — = 0,043 0/0.
Au bout de 60 minutes les altérations sont sensiblement les mêmes qu'avec l'iodure.

A 9 centimètres cubes Nacl Δ — 0° 56 on ajoute 1 centimètre cube de cyanure de potassium 1 0/0, ce qui fait une solution isotonique de cyanure à 1 0/0.

1 centimètre cube de cyanure + 24 de sang = 1 p. 25.000. Examen au bout de 30 minutes, tous les globulins sont arrondis, irréguliers, granuleux

233. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.
— citraté à 1 0/00.
Sur 9 centimètres cubes de ces deux échantillons on fait agir 1 centimètre cube d'une solution de cyanure de potassium Δ — 0°56 (environ 1 0/0) c'est-à-dire à 1 0/00.
Les globulins (30 minutes) sont tous ronds, irréguliers, épineux, extrêmement déformés.

A 2 0/00 le chlorhydrate de toluylendiamine n'agit pas sur les globulins : le pyrogallol à 1 0/00, le chlorhydrate d'aniline à 2 0/00 sont également inactifs : il est intéressant de comparer l'action de ces deux dernières substances sur les globules rouges qui sont hémolysés ou méthémoglobinisés dans les mêmes conditions.

491. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/0 (oxalate K).
Contact 2 heures.
Solutions fraiches dans Nacl 9 0/00 de chlorhydrate de toluylendiamine 2 0/0, pyrogallol 2 0/0, chlorhydrate d'aniline 4 0/0.
Pyrogallol.
0,5 cmc. + 9,5 cmc. sang = 1 0/00.
Hémolyse : plasma noir, globulins normaux.
Chlorhydrate d'aniline.
0,5 cmc. + 9,5 cmc. — = 2 0/00.
Sang noir, hémolyse, globulins normaux.
Chlorhydrate de toluylendiamine.
1 cmc. + 9 cmc. — = 2 0/00.
Pas d'hémolyse ni d'agglutination : globulins normaux.

Les variations morphologiques que peuvent présenter les globulins sont de différents types comme le montrent les observations que je viens de rapporter : il existe des formes d'altérations

courtes et des formes d'altérations longues. Les formes courtes se distinguent les unes des autres suivant qu'elles s'accompagnent ou non de l'apparition de granulations.

On peut observer des globulins simplement modifiés dans leur forme, plus courts, ovalaires ou arrondis, ou bien encore des

Fig. 5. — Globulins de chien citratés 1 0/0, conservés 30 minutes à l'étuve, à 38°, en présence de sulfate de quinine (1/2500).
Forme arrondie contractée.

globulins arrondis dans leur ensemble, mais irrégulièrement, avec un halo moins marqué à la périphérie, tels que ceux de la figure 5 qui représente des globulins de chien citratés à 1 0/0, après 30 minutes de contact avec 1/2500 de chlorhydrate de quinine. Dans d'autres cas, les bords sont hérissés de fins prolongements qui donnent à l'élément un aspect étoilé : le globulin peut perdre son aspect homogène, lisse, et des granulations apparaissent à l'intérieur.

Les formes d'altérations longues donnent des images des plus curieuses : je les ai vues avec l'urée, on les obtient facilement avec des colloïdes (matières colorantes, sérums hétérogènes) ; la figure 6 représente quelques-uns de ces types ; la longueur des éléments est augmentée, leur largeur est irrégulière : ils peu-

Fig. 6. — Globulins de chien citratés 1 0/0 : en contact 1 heure à 38° avec une solution isotonique de bleu de Prusse (1 cmc. p. 10).
Formes d'altérations longues avec fin prolongement simulant un flagellum.

vent se terminer par un fin prolongement qui simule un flagellum ; leur réfringence est changée et le plus souvent très diminuée ; on en voit sous forme de rubans extrêmement pâles.

Quelle est la signification de ces différents types d'altérations ?

La forme régulièrement ovalaire ou arrondie me paraît traduire une altération minime, peut-être une simple diminution d'activité,

correspondre plus à un trouble fonctionnel qu'à une lésion anatomique : nous savons en effet qu'elle est réparable, qu'elle apparaît avec le refroidissement, et disparaît quand la température redevient physiologique (voir chapitre II).

Les formes contractées, irrégulièrement arrondies, que les bords soient épineux ou non, sont l'indice d'une altération beaucoup plus grave : l'apparition de granulations à l'intérieur est un signe de désorganisation très avancée.

Les formes d'altérations longues traduisent également une désorganisation très avancée du globulin, comme je le montrerai plus loin par l'étude des globulins fixés (chapitre VIII).

Un autre fait se dégage des expériences précédentes, c'est que, dans un plasma contenant la même quantité de substances étrangères, à condition que celles-ci ne soient pas trop actives ou soient à doses extrêmement faibles, tous les globulins ne sont pas également altérés, et qu'il y en a un certain nombre qui échappent à toute action nocive. En d'autres termes, les globulins ont une résistance inégale en présence d'agents toxiques ; il en est de même, on le sait, des leucocytes et des globules rouges.

CHAPITRE VI

AGGLUTINATION DES GLOBULINS

§ 1. — Agglutination des globulins en général.

Une des propriétés des globulins qui ont le plus attiré l'attention des auteurs, c'est la rapidité avec laquelle ils se fusionnent en amas, ils *s'agglutinent* ; j'ai indiqué dans les chapitres précédents comment il fallait procéder pour éviter cette agglutination ; je vais maintenant montrer comment on peut la produire *in vitro* ; de cette étude, je déduirai la cause de l'agglutination *spontanée* des globulins dans le sang extrait des vaisseaux sans précautions spéciales, et l'explication du rôle protecteur des citrates et oxalates alcalins.

La présente étude ne concerne que le chien : j'ai utilisé le plus souvent des chiens ayant subi une ou plusieurs saignées, dont le sang a le très grand avantage de sédimenter rapidement. Dans ces études d'agglutination, il est plus que jamais indispensable d'opérer sur des sangs extrêmement purs, et les plus grandes précautions doivent être prises pour éviter le contact des tissus ; on ne doit pas recueillir sur le même chien plus de 150 à 200 centimètres cubes de sang dans une même saignée : avec des quantités plus considérables, il est à peu près fatal que l'aiguille se déplace dans l'artère, et on a un sang qui s'agglutine spontanément au bout d'une heure ou deux.

La technique, par ailleurs, reste la même : tubes et pipettes paraffinés, examen à 38° en goutte pendante.

Sur un chien ayant déjà subi une saignée un peu importante, 200 grammes par exemple, 2 ou 3 jours avant, faisons une saignée et recueillons le sang dans l'oxalate, de manière à l'oxalater

à 2 0/00 : à 9 centimètres cubes de sang, ajoutons 1 centimètre cube de solution de peptone de Witte à 5 0/0 dans l'eau salée physiologique. Mettons le tube à l'étuve à 38° et examinons au bout d'un quart d'heure, d'une demi-heure, d'une heure, le plasma de moins en moins coloré qui est au-dessus du culot globulaire, en ayant soin au préalable d'agiter très légèrement le tube, sans toutefois désagréger le culot.

Au bout d'un quart d'heure, dans le plasma peptoné, les globulins isolés ont diminué de nombre, de moitié ou des deux tiers : ils ont d'ailleurs conservé leur aspect normal ; la peptone n'est pas globulinolytique à cette dose et dans ces conditions ; il faut des doses de beaucoup supérieures pour altérer les globulins sans les faire disparaître toutefois.

Les globulins qui paraissent manquer ne sont pas détruits, ils sont simplement groupés en amas de 15, 20 et plus ; ils ont conservé leur forme normale, allongée, et les amas de globulins agglutinés rappellent à s'y méprendre les amas de bacilles agglutinés par un sérum spécifique.

Reprenons une goutte de plasma peptoné au bout d'une demi-heure : les globulins isolés sont encore moins nombreux, mais les amas ont augmenté considérablement de volume ; il y en a qui occupent presque tout entier le champ du microscope, leur aspect est toujours le même, en paquet d'aiguilles ; notons également que le taux des leucocytes a diminué ; on peut en voir quelques-uns englobés dans les amas, qui ne contiennent, pour ainsi dire, jamais de globules rouges.

Au bout d'une heure, si l'on reprend une goutte à la partie supérieure du tube, l'examen ne révèle plus de globulins : il faut agiter le tube, et alors on pourra observer des agglutinations énormes de globulins.

L'agglutination des globulins s'accompagne donc de leur précipitation : c'est d'ailleurs un fait général, qui n'est pas spécial aux globulins, et qui explique l'aspect tout à fait spécial des plasmas à globulins agglutinés et qui sont en réalité déglobulinisés par précipitation (1).

(1) Une des raisons qui me font éviter le plus possible la centrifugation

Le plasma avec globulins, en dehors de toute coagulation et précipitation, a un aspect légèrement opalescent ; lorsqu'on agite le tube, on produit des ondes soyeuses absolument comme si on agitait une culture de bacilles d'Eberth. Le plasma déglobulinisé est tout à fait limpide et ne donne pas d'ondes soyeuses.

L'expérience que je viens de rapporter montre que dans l'agglutination des globulins comme dans l'agglutination microbienne, il faut tenir compte du facteur temps ; l'agglutination n'est pas immédiate et est proportionnelle au temps, au moins au début : en effet, si nous avions employé des substances peu agglutinantes, à doses faibles, nous aurions vu au bout d'un certain temps l'agglutination s'arrêter.

L'agglutination dépend donc, en plus de la durée du contact, de la quantité de substance agglutinante ajoutée : dans l'expérience suivante, le contact a été de 60 minutes, la quantité de substance agglutinante a varié sous le même volume de 2 0/00 à 1 0/0000 : à 2 et 1 0/00 l'agglutination était totale, à 1 0/0000 nulle, à 2 et 1 0/000, seulement forte.

483. — *Chien.* 3e saignée. Sang oxalaté à 2 0/00 (oxalate de soude).
Ovalbumine desséchée.
Solutions à 2 0/0, 1 0/00, 1 0/000 dans l'eau salée physiologique.
Contact : 60 minutes.

9 cmc. sang	+ 1 cmc. ovalbumine	2 0/0	= 2 0/00.	Agglutination totale.
9 —	+ 0 — 5 —	—	= 1 0/00.	Agglutination totale.
9 —	+ 1 —	1 0/0	= 1 0/000.	Agglutination forte.
9 —	+ 1 —	1 0/000	= 1 0/0000.	Agglutination nulle.
9 —	+ 1 — sérum antidiphtérique.			Agglutination nulle.

Indépendamment des facteurs temps et quantité, il y a lieu de tenir compte de la température à laquelle on opère.

Si au lieu de mettre les tubes à l'étuve à 38° nous les avions mis dans la glace fondante, nous aurions eu les modifications habituelles des globulins sous l'action du froid, mais pas d'agglutination.

est précisément cette précipitation des globulins agglutinés, et l'on conçoit facilement que par la méthode des centrifugations fractionnées on obtienne toujours dans le plasma surnageant des globulins isolés.

336. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.
Solution de peptone 10 0/0
1 centimètre cube peptone + 9 centimètres cubes sang. 1 h. 30 à 38°.
Tous les globulins sont en amas de 10 à 15, en bâtonnets.
1 — peptone + 9 — sang. 1 h. 30 à 0°.
Tous les globulins sont arrondis ; pas la moindre agglutination.

Deux hypothèses peuvent être soulevées : 1° les globulins morts ne sont pas agglutinables : la vie des globulins est nécessaire à l'agglutination ; 2° l'agglutination exige certaines conditions de température. L'expérience vérifie la deuxième hypothèse.

Congelons rapidement du plasma oxalaté et faisons-le revenir à la température ordinaire, nous vérifierons une fois de plus l'action du froid sur les globulins. Peptonisons également un tube de ce plasma refroidi et un tube de plasma témoin conservé à 38° et mettons-les tous les deux à l'étuve à 38°. L'agglutination suit sensiblement la même marche dans les deux tubes ; il n'y a qu'une différence, c'est que dans le tube qui aura été refroidi, les globulins auront une forme arrondie et irrégulière, tandis que dans l'autre ils auront leur aspect normal, allongé.

332. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00, citraté à 5 0/00.
Une partie du sang a été congelée rapidement deux fois dans un mélange de glace et de sel, puis réchauffée.
Le sang a été ensuite peptonisé en même temps que le sang non refroidi et mis à l'étuve 1 heure.
Solution de peptone à 10 0/0.
1 centimètre cube peptone + 9 centimètres cubes sang oxalaté congelé. Agglutination totale, globulins arrondis.
1 centimètre cube peptone + 9 centimètres cubes sang oxalaté non congelé. Même résultat sauf que les globulins ont leur forme allongée.
1 centimètre cube peptone + 9 centimètres cubes sang citraté à 5 0/00 congelé. Agglutination complète, globulins arrondis.
1 centimètre cube peptone + 9 centimètres cubes sang citraté à 5 0/00 non congelé. Même agglutination, mais globulins allongés.

On peut également agglutiner les globulins tués par le sulfate de quinine, mais il est nécessaire d'opérer sur du sang citraté, l'oxalate précipitant la quinine.

336. — *Sang de chien* citraté à 5 0/00, additionné à 1 0/00 de chlorhydrate neutre de quinine, peptonisé au bout de 30 minutes.

1 centimètre cube peptone + 9 centimètres cubes sang, 1 h. 30. Gros amas de globulins arrondis.

J'ai montré (chapitre III) que le rôle protecteur du citrate et de l'oxalate contre l'agglutination spontanée, était proportionnelle à leur quantité. Il en est de même, au moins en ce qui concerne le citrate, à l'égard des substances agglutinantes ajoutées au sang : le pouvoir anti-agglutinant de l'oxalate contre les substances ajoutées est minime ; on agglutine un peu plus rapidement les sangs oxalatés à 1 0/00 que les sangs oxalatés à 2 0/00, mais on arrive encore à agglutiner les sangs oxalatés à 4 et 6 0/00. Avec le citrate, on peut facilement mettre en évidence les rapports entre la quantité de stabilisant et le pouvoir anti-agglutinant, comme le montrent les expériences suivantes concernant la gélatine et la peptone.

321. — Solution de peptone à 5 0/0 dans l'eau salée.

Sang de chien citraté à 10 0/00, 5 0/00, 2,5 0/00.

Oxalaté à 1 et 2 0/00.

Durée du contact, 1 heure.

1 cmc. de peptone + 9 cmc. sang citraté à 10 0/00. Pas la moindre agglutination.

1 cmc. de peptone + 9 cmc. sang citraté 5 0/00. Agglutination presque totale.

1 cmc. de peptone + 9 cmc. sang citraté 2,5 0/00. Coagulation.

1 cmc. de peptone + 9 cmc. sang oxalaté 1 0/00. Agglutination énorme.

1 cmc. de peptone + 9 cmc. sang oxalaté 2 0/00. Agglutination énorme.

L'agglutination a été beaucoup plus marquée avec le sang de ce chien

(1) Dans toutes mes expériences d'agglutination, sauf exceptions indiquées, j'ajoute toujours la même quantité de solution agglutinante : seul le taux des solutions varie suivant les expériences. De même pour les sangs citratés ou oxalatés à des taux différents, j'emploie toujours la même quantité de solution pour la même quantité de sang (10 de solution pour 90 de sang). La faible solubilité des oxalates alcalins ne m'a pas permis de les utiliser à un taux supérieur à 6 0/00.

qu'avec celui du n° 314 : à rapprocher de la coagulation du sang citraté à 2, 5 0/00 qui n'était pas coagulé dans l'expérience 314.

314. — *Sang de chien* oxalaté à 1 0/00 — O^1.
— — à 2 0/00 — O^2.
— — citraté à 1 0/0 — C^1.
— — citraté à 0,25 0/0 — C^{25}.

Ces quatre échantillons contiennent 5 centimètres cubes de solution anticoagulante et 45 centimètres cubes de sang.

Action d'une solution de gélatine à 2 0/0 dans l'eau salée 7 0/00.

En 1 heure, 1 p 500 de gélatine.

1 centimètre cube gélatine + 9 O^1. Agglutination presque totale : les globulins isolés sont très rares.

1 centimètre cube gélatine + 9 O^2. Agglutination forte.
1 — + 9 C^1, — nulle.
1 — + 9 C^{25}, — forte.

Solution de peptone à 5 0/0 dans l'eau salée, sur les mêmes échantillons, même temps.

1 centimètre cube peptone + 9 O^1. Agglutination forte.
1 — + 9 O^2, — forte.
1 — + 9 C^1, — nulle.
1 — + 9 C^{25}, — forte.

L'agglutination des globulins ayant été envisagée comme le premier temps de la coagulation, on pouvait se demander s'il était possible de la produire dans des sangs incoagulables : les deux expériences suivantes montrent que l'agglutination est possible même avec des sangs incoagulables ; dans un prochain chapitre (chapitre IX), je montrerai qu'un grand nombre de sangs rendus incoagulables *in vivo* sont en réalité agglutinés :

358. — Agglutination par la peptone des globulins dans un sang à coagulation très retardée par injection intra-veineuse d'extrait de sangsues

Sang oxalaté à 2 0/00.

9 centimètres cubes sang + 1 centimètre cube peptone 10 0/0. 60 minutes. Agglutination intense.

9 centimètres cubes sang + 1 centimètre cube peptone 5 0/0. 60 minutes Agglutination forte.

349. — *Sang de chien* incoagulable par injection de bleu de Prusse — (348).

9 centimètres cubes sang oxalaté 2 0/00 + 1 centimètre cube peptone 10 0/0. 1 h. 30. Agglutination intense.

Toutes mes expériences d'agglutination ont été faites sur des globulins contenus dans leur plasma : il est fort possible, et même probable, que les globulins déplasmatisés se comportent autrement. Je crois qu'il y a intérêt à séparer le moins possible les éléments anatomiques de leur milieu ; les réactions biologiques sont fonction du milieu. On sait que les globules rouges ne s'hémolysent pas de la même manière dans l'eau salée et en présence du sérum, que les leucocytes ont un pouvoir phagocytaire différent selon qu'ils sont en suspension dans l'eau salée ou leur sérum. En opérant comme je l'ai fait, on a, je crois, des résultats qui se rapprochent beaucoup plus de ce qui se passe dans l'organisme : et l'on verra plus loin que les substances qui agglutinent les globulins *in vitro* se comportent précisément *in vivo* toutes identiquement, et d'une manière très spéciale. Seules, jusqu'ici et dans les conditions où je me suis placé, les solutions colloïdales m'ont paru capables d'agglutiner les globulins. Si on ajoute à un sang faiblement citraté une grande quantité d'un électrolyte, de l'eau salée par exemple, on observe de l'agglutination, mais il faut tenir compte de la dilution du citrate, et l'on se trouve dans le cas d'un sang insuffisamment citraté, s'agglutinant spontanément comme je l'ai exposé chapitre III.

Dans les expériences suivantes, j'ai surtout utilisé des sangs citratés à 1 0/0 et oxalatés à 2 0/00. J'ai toujours fait des témoins avec de l'eau salée à 7 0/00. Comme le montrent ces expériences, le sang citraté à 1 0/0 n'est pas ou est très peu agglutinable, alors que le sang oxalaté à 2 0/00 l'est beaucoup et constitue un excellent matériel, suffisamment sensible, pour la recherche de l'agglutination.

Je dois préciser la signification des mots que j'emploie pour évaluer l'agglutination.

Agglutination totale signifie : disparition totale des globulins du plasma surnageant ; il faut agiter le tube pour observer des amas occupant le champ tout entier du microscope (Zeiss 1/12, oc. 3). Les plasmas ne contiennent à peu près que des globules rouges ; les leucocytes sont tout à fait rares.

La figure 7 donne une idée de ce que j'entends par agglutination moyenne. L'agglutination forte est l'intermédiaire entre les deux.

Dans l'agglutination faible, les globulins isolés sont très nombreux, mais il y a beaucoup de paquets de 3 à 10 éléments. Les leucocytes sont encore nombreux.

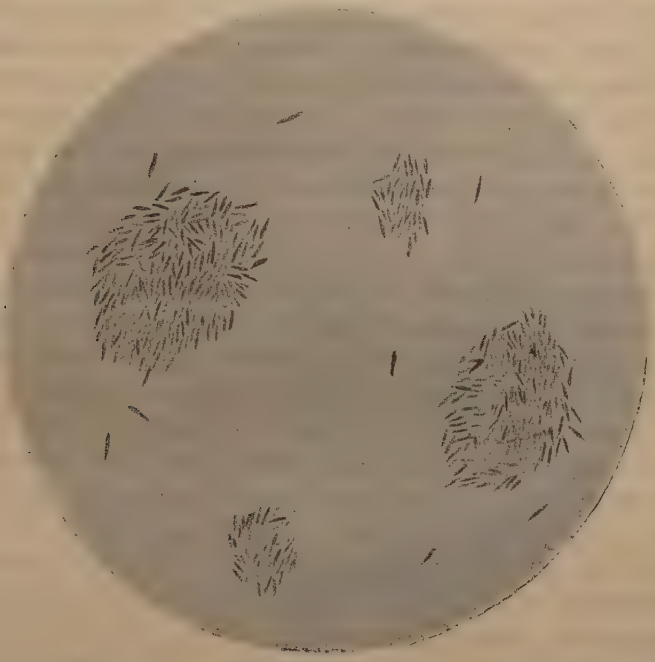


Fig. 7.— Sang de chien oxalaté 2 0/00. Agglutination par la peptone (1 cmc. peptone 5 0/0 pour 9 cmc. sang, 30 minutes à 38°).

Je n'ai envisagé jusqu'ici que l'agglutination pure et simple sans m'occuper des variations morphologiques des éléments ; il existe des substances agglutinant purement et simplement ; il en existe qui, en même temps qu'elles agglutinent, altèrent morphologiquement les globulins, et je pourrai ici répéter ce que j'ai déjà exposé sur ce sujet (formes d'altérations courtes, formes longues).

Le citrate et l'oxalate exercent leur rôle protecteur non seulement sur l'agglutination, mais encore sur les altérations morpho-

logiques des éléments eux-mêmes : les expériences que je rapporte à la fin de ce chapitre en donnent quelques exemples (1).

L'agglutination de globulins normaux ou altérés n'est, au moins dans certains cas, que le premier temps d'un phénomène qui aboutit à la destruction de ces éléments. Dans les sangs faiblement citratés, on observe la fusion des éléments les uns avec les autres, en masses granuleuses, irrégulières, analogues à celles bien connues que l'on observe dans les mers plasmatiques d'une préparation de sang frais par les procédés ordinaires.

D'après les observations que j'ai faites avec la saponine, je crois que cette fusion prépare une désagrégation : en effet ces masses disparaissent rapidement, et on ne trouve plus qu'une poussière, impossible à identifier et qui ne tarde pas elle-même à disparaître.

Je fais remarquer que l'agglutination d'abord, la destruction, *la digestion* ensuite, représentent une succession de phénomènes dont la généralité a déjà été signalée par de nombreux auteurs sur des objets différents (fibrine, lait, bactéries, globules rouges, etc.).

Je n'ai fait que des recherches assez limitées, et il est probable qu'un grand nombre d'autres substances colloïdales ont également la propriété d'agglutiner les globulins. Je fais également remarquer que des substances que je note comme faiblement agglutinantes peuvent l'être beaucoup dans d'autres conditions (diminution du citrate, par exemple).

Parmi les colloïdes organiques, la gélatine, l'ovalbumine, la caséine, la peptone ont des propriétés agglutinantes très marquées. Il en est de même de la gélose (albumine végétale) ; cette substance agglutine et altère rapidement et énergiquement les globulins : ces éléments prennent des formes arrondies, irrégulières, granuleuses, avec des prolongements qui ont été pris pour des pseudopodes (Deetjen) (2).

(1) Toutes mes expériences sur le rôle du citrate et de l'oxalate à l'égard des globulins sont à rapprocher de celles de O. Gengou sur le pouvoir antihémolysant du citrate de soude dans l'hémolyse par le sérum d'anguille, le venin de cobra, etc. D'une manière indépendante, et en travaillant sur un autre objet, j'ai réalisé des expériences superposables et concordantes.

(2) Deetjen examine le sang sur une couche de gélose.

La gomme arabique, le mastic sont très agglutinants. Le glycogène et l'amidon le sont à un degré bien moindre.

La lécithine du jaune d'œuf, les huiles et les graisses émulsionnées sont très agglutinantes ; il en est de même de la saponine, de la ricine, du taurocholate de soude.

On voit que les substances organiques, qu'elles soient d'origine animale ou végétale, sont susceptibles d'agglutiner les globulins.

Parmi les colloïdes inorganiques, j'ai étudié le mercure, l'argent, le platine, l'or, qui sont très agglutinants : avec le bleu de Prusse (ferrocyanure de fer), j'ai obtenu des résultats variables suivant les préparations ; le ferrocyanure de cuivre est peu agglutinant.

Le sulfure d'arsenic agglutine.

Tous ces colloïdes sont de signe — ; parmi les colloïdes de signe +, j'ai étudié l'hydrate de fer, qui agglutine, et le rose de Magdala, qui n'agglutine pas.

Les bouillons de cultures dont on se sert en bactériologie, la gélose sont agglutinants ; il y aura lieu d'en tenir compte dans l'étude des produits microbiens sur les globulins (1).

Agglutination par le blanc d'œuf.

A. **475**. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Blanc d'œuf frais dans l'eau salée : 10 0/0, 1 0/0, 0,1 0/0.

Contact 2 heures.

9 centimètres cubes de sang pour 1 centimètre cube des trois dilutions (0,1, 0,01, 0,001 0/0 de blanc d'œuf).

Pas d'agglutination. Globulins de forme allongée.

B. **477**. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Contact 2 heures.

9 cmc. sang + 1 cmc. blanc d'œuf. Agglutination légère, globulins subnormaux.

9 cmc. sang + 0,5 cmc. blanc d'œuf. Agglutination légère, globulins subnormaux.

9 cmc. sang + 1 cmc. blanc d'œuf à 50 0/0. Agglutination légère, globulins subnormaux.

(1) Dans toutes les expériences rapportées dans ce travail, je me suis mis à l'abri des interventions microbiennes.

9 cmc. sang + 1 cmc. blanc d'œuf 25 0/0. Agglutination très faible, presque tous les globulins sont normaux.

508. — *Chien*, 2e saignée.
Sang oxalaté à 2 0/00 (oxalate de Na dans NaCl 9 0/00).
Solutions dans l'eau distillée.
9 centimètres cubes + 1 centimètre cube gélose 1 0/0 = 1 0/00.
Contact 50 minutes. Agglutination complète. Globulins arrondis.
9 cmc. + 1 cmc. nutrose 0,50 0/0 (solution alcaline dans CO^3Na^2.
50 minutes. Traces d'agglutination, altérations légères des globulins.
9 cmc. + 1 cmc. bouillon de viande de bœuf à 1,5 0/0 peptone Witte).
140 minutes. Traces d'agglutination, altérations légères des globulins.

416. — *Chien.* 2e saignée.
Sang oxalaté à 2 0/00, citraté à 1 0/0.
Saponine 1 0/0 dans NaCl 9 0/00.
Ricine 1 0/0 — —
9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. ricine = 1 0/00.
60 minutes. Agglutination complète, globulins très altérés.
9 cmc. sang citraté + 1 cmc. ricine.
1 h. 45. Agglutination moyenne, globulins sub-normaux.
9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. saponine = 1 0/00.
Hémolyse. On ne trouve que des masses granuleuses correspondant sans doute à des globulins agglutinés et détruits.
9 cmc. sang citraté + 1 cmc. saponine.
1 h. 45. Même résultat en ce qui concerne les globulins. Leucocytes intacts et mobiles (38° entre lame et lamelle).

491. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00 (oxalate K).
Contact : 120 minutes.
Solutions fraîches dans NaCl 9 0/00 de taurocholate de soude 4 0/0, saponine 1 0/0, ricine 1 0/0.
Taurocholate :
1 cmc. + 9 cmc. sang = 4 0/00.
0 cmc. 5 + 9 cmc. 5 sang = 2 0/00.
Hémolyse. Agglutination totale des globulins et formes d'altérations longues.
Saponine :
1 cmc. + 9 cmc. sang = 1 0/00.
Hémolyse. Agglutination totale en amas fusionnés.
0 cmc. 5 + 9 cmc. 5 = 0,5 0/00.

Agglutination totale, hémolyse, globulins très altérés.
0 cmc. 2 + 9 cmc. 8 = 0,25 0/00.
Hémolyse faible, pas d'agglutination, altérations légères des globulins.
Ricine :
1 cmc. + 9 cmc. = 1 0/00.
Agglutination complète ; globulins très altérés, fusionnés.

240. — Huile de pieds de mouton.
1/2 centimètre cube est émulsionné avec du carbonate de soude et de l'eau salée de manière à avoir une émulsion à 1 0/0 dans 7 0/00 de Nacl et 1 0/00 de carbonate.
1 cmc. + 9 cmc. sang de chien oxalaté ; au bout de 30 minutes, agglutination intense.

241. — Huile d'amandes douces émulsionnée dans les mêmes conditions.
Sang de chien citraté à 1 0/0 et oxalaté à 2 0/00.
Mêmes proportions et même durée que l'observation précédente : l'agglutination est plus intense en milieu oxalaté qu'en milieu citraté.

245. — Huile d'olives émulsionnée, dans les mêmes conditions.
Sang de chien oxalaté à 2 0/00. Agglutination un peu moins intense qu'avec l'huile d'amandes douces.

258. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0, oxalaté à 2 0/00.
Lécithine du jaune d'œuf (solution 1 0/0, NaCl et carbonate de soude).
1 cmc. + 9 cmc. sang = 1 0/00. Au bout d'une heure agglutination complète dans l'oxalate, nulle dans le citrate.
Albumine du blanc d'œuf, (solution à 2 0/0 dans NaCl 7 0/00).
1 cmc. + 9 cmc. sang = 2 0/00. Au bout d'une heure agglutination complète dans l'oxalate, quelques amas dans le citrate.
Gélatine à 2 0/0 dans NaCl 7 0/00.
1 cmc. + 9 cmc. sang = 2 0/00. Agglutination complète dans l'oxalate, nulle dans le citrate.
Caséine 2 0/0, dans NaCl 7 0/00 et CO^3Na^2.
1 cmc. + 9 cmc. sang oxalaté = 2 0/00. Agglutination complète.

301. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00 — 0.
— citraté à 1 0/0 — C^1.
— — 0,5 0/0 — C^5.

Sulfure d'arsenic colloïdal isotonique (2 *milligrammes par centimètre cube*).

0 cmc. 5 d'arsenic + 9 cmc. 0.
0 — 5 — + 9 — C^1.
Agglutination dans le tube oxalaté au bout de 45 minutes.

Dans les deux tubes, les globulins sont tous arrondis et irréguliers au bout de 2 heures.

Hémoglobine commerciale ; solution 1 *p.* 50 *dans NaCl.* 7 0/00.

1 cmc. hémoglobine + 9 cmc. O = 2 0/00 d'hémoglobine.
1 — + 9 cmc. C^1.
1 — + 9 cmc. C^5.

En O, au bout de 45 minutes agglutination intense ; en C^5, agglutination légère ; en C^1 au bout de 2 heures globulins normaux : pas trace d'agglutination.

Rouge de Magdala : Solution à 2 0/0 *dans NaCl.*

1 cmc. rouge + 9 cmc. O = 2 0/00 de rouge.
1 — + 9 — C^5.

Au bout de 2 heures les globulins sont extrêmement altérés, mais il n'y a pas d'agglutination.

Glycogène de foie de lapin.— Solution à 1 0/0 *dans NaCl.*

1 cmc. glycogène + 9 O = 1 0/00 de glycogène.
1 — + 9 C^1.

En O, agglutination légère au bout de 45 minutes ; nulle au bout de 2 heures.

En C^1, au bout de 1 h. 45 globulins normaux.

Empois d'amidon.

Solution à 1 0/0 dans NaCl, bouillie et filtrée sur ouate : une partie seulement de l'amidon a été émulsionnée.

1 cmc. amidon + 9 cmc. O.
1 — + 9 — C^5.

En O, 35 minutes agglutination légère.

En C^5, les globulins sont absolument normaux et isolés.

293. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Solution de gomme arabique à 1 0/0 dans NaCl 7 0/00.

1 cmc. gomme + 9 cmc. sang = 1 0/00.

Au bout de 45 minutes tous les globulins sont en amas de 15 à 20,

204. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.

15 cmc. de sang + 10 cmc. argent colloïdal électrique à petits pains isotoniques.

Examen 30 minutes : pas de globulins isolés, globulins agglutinés par amas de 8 à 10 ; globulins de forme normale.

245. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.

2 cmc. 5 argent + 22 cmc. 5 sang.
5 — + 20 —

Agglutination sans altérations morphologiques.

213. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0.
— oxalaté à 2 0/0.
0 cmc. 25 argent + 9 cmc. 75 sang.
Le sang citraté n'est pas agglutiné ; le sang oxalaté donne une agglutination très marquée.
L'expérience a été refaite avec de l'électrargol non stabilisé et a donné les mêmes résultats.

412. — Chien, 3e saignée.
Sang de chien oxalaté à 2 0/00 (oxalate de potasse) et citraté à 1 0/0.
Solutions colloïdales électriques stabilisées et isotoniques de mercure et de platine (préparations médicamenteuses).
Contact 1 h. 30.
9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. mercure, agglutination complète, globulins très déformés.
9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. platine, agglutination forte.
9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. NaCl à 9 0/00, agglutination nulle.
Pas d'agglutination dans les mêmes conditions avec sang citraté à 1 0/0.

306. — *Sang de chien* de 22 kilos, recueilli 54 minutes après injection intra-veineuse de 40 centimètres cubes bleu de Prusse (A. Mayer). Pas d'incoagulabilité à cette dose.
Solutions colloïdales de mastic et bleu de Prusse.
1 cmc. mastic + 9 cmc. sang oxalaté à 2 0/00,30 minutes agglutination intense ; 60 minutes agglutination complète.
1 cmc. mastic + 9 cmc. sang citraté à 1 0/0, 60 minutes, agglutination nulle.
1 cmc. bleu + 9 cmc. sang oxalaté, 60 minutes, agglutination nulle.
1 cmc. bleu + 9 cmc. sang citraté, 60 minutes, agglutination nulle.

335. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00, citraté à 5 0/00.
Solution de bleu de Prusse (A. Mayer) dialysé.
1 cmc. bleu + 9 cmc. sang citraté.
1 cmc. bleu + 9 cmc. sang oxalaté, 60 minutes, pas d'agglutination : la moitié des globulins sont normaux.

356. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.
Solution de bleu de Prusse soluble pour histologie en solution saturée dans l'eau salée (— de 1 0/0 de bleu).
Solution de collargol à 1 0/0 dans l'eau salée.
Solution de glycogène de moule (foie) à 1 0/0 dans l'eau salée.
Durée : 1 h. 30.

9 cmc. sang + 1 cmc bleu. Agglutination nulle.
9 cmc. sang + 1 cmc. collargol. Agglutination nulle.
9 cmc. sang + 1 cmc. glycogène. Agglutination nettement positive, mais légère.

298. — Venin de cobra provenant de l'Institut Pasteur de Lille.
Solution dans l'eau salée contenant 1 milligramme par centimètre cube.
1 cmc venin + 9 cmc. sang d'âne pur.
1 — + 9 — citraté à 0,25 0/0.
1 — + 9 — citraté à 1 0/0.
1 — + 9 — oxalaté à 2 0/00.
Dans les 4 tubes au bout de 60 minutes, globulins arrondis, irréguliers, finement granuleux ; quantité de venin : 1 p. 10.000.

On trouvera chapitre VII (exp. 440, 499, 488) un certain nombre de faits se rapportant à l'agglutination par les substances colorantes.

§ 2. — Agglutination par les tissus et quelques liquides de l'organisme.

Les extraits de tissus se comportent par rapport aux globulins absolument comme les colloïdes que je viens d'étudier.

Je prends un certain poids de muscle à un animal sans m'attacher à n'avoir rigoureusement que du muscle : je prends l'aponévrose, le tissu conjonctif, la graisse, etc., bref les éléments qui peuvent être au contact du sang dans une plaie : les tissus sont rapidement et grossièrement broyés avec du sable, et on ajoute une quantité suffisante d'eau salée pour avoir 100 centimètres cubes de liquide pour 10 grammes de muscle. Je n'ai pas ainsi de produit d'autolyse ni de substances mises en liberté par le broiement des cellules, mais simplement un suc obtenu par l'expression des tissus. Un centimètre cube d'extrait agglutine d'une manière on ne peut plus évidente les globulins oxalatés à 2 0/00 et citratés à 0. 75 0/0 : le citrate à 1 0/0 empêche l'agglutination ; l'expérience donne les mêmes résultats, qu'il s'agisse de muscles de cobaye ou de muscles de chien. J'ai essayé l'action du muscle de grenouille ;

elle s'est montrée un peu plus énergique que celle du muscle de mammifère.

294. — Extraits aqueux frais de muscles de cobaye et de grenouille sur les globulins du chien.

10 grammes de muscles sont broyés dans l'eau salée de manière à faire un extrait à 10 0/0 qui est filtré sur ouate.

Sang de chien citraté à 0,75 et 1 0/0, oxalaté à 2 0/00.

On ajoute 1 centimètre cube d'extrait à 9 centimètres cubes de sang.

Extrait de muscle de grenouille.

Sang oxalaté. Au bout de 25 minutes, tous les globulins sont en amas de 15 à 20.

Au bout de 60 minutes, les globulins agglutinés ont une forme arrondie.

Sang citraté à 0,75 0/0. Même résultat.

Sang citraté à 1 0/0. Agglutination légère.

Avec *l'extrait de muscle de cobaye*, le sang oxalaté à 2 0/00 donne la même agglutination que par le muscle de grenouille, le sang citraté à 0,75 0/0 donne une agglutination plus légère, et le sang citraté à 1 0/0 n'est pas agglutiné du tout.

287. — *Sur un chien* sacrifié on recueille 10 grammes de muscles (y compris l'aponévrose, la graisse, etc.), on les broie avec du sable à la presse et on ajoute une quantité suffisante d'eau salée pour faire un extrait à 10 0/0. On filtre sur ouate ; 50 centimètres cubes sont utilisés tels quels ; 50 centimètres cubes sont chauffés à l'ébullition et le coagulum est séparé par filtration.

Action de ces extraits sur du sang de chien oxalaté à 2 0/00, *citraté à* 0,75 *et* 1 0/0. Les examens ont été faits de 1 heure à 1 heure 30 après.

1 cmc. extrait chauffé + 9 cmc. sang oxalaté à 2 0/00, globulins en amas, mais de forme normale, en bâtonnet.

1 cmc. extrait non chauffé + 9 cmc. sang oxalaté à 2 0/00, globulins en amas : la moitié seulement des éléments sont en bâtonnet.

En milieu citraté à 1 0/0 et 0,75 0/0, l'extrait de tissus ne produit pas d'agglutination.

On remarquera que les extraits chauffés à l'ébullition, et par conséquent privés d'une partie de leurs albumines, sont encore agglutinants : les expériences suivantes montrent que les substances solubles dans l'éther sont agglutinantes (graisses, lipoïdes, etc.).

294 *bis.* — *Extrait éthéré de muscle de cobaye sur les globulins du chien.* — 1 gramme d'extrait est émulsionné à 1 0/0 dans l'eau salée 7 0/0 avec 0 gr. 10 de carbonate de soude.

Sang de chien oxalaté à 2 0/00, citraté à 0,75 0/0 et 1 0/0.
1 cmc. extrait + 24 cmc. sang oxalaté 2 0/00.
Au bout de 35 minutes tous les globulins sont en amas.
1 cmc. extrait + 24 cmc. sang citraté à 0,75 0/0.
Le résultat est le même.
1 cmc. extrait + 24 cmc. sang citraté à 1 0/0.
Un grand nombre de globulins isolés et quelques petits amas.

322. — *Extrait éthéré de muscle de chien.*— 0 cmc. 50 extrait + 0 cmc. 10 carbonate de soude + 50 cmc. eau salée : 1 cmc. de la solution = 0gr. 01 d'extrait.

A 9 cmc. de sang de chien citraté à 10, 5 et 2,5 /00, oxalaté à 1 et 2 0/00, on ajoute 1 centimètre cube d'extrait (1 0/00).

Au bout de 60 minutes, dans le sang citraté à 10 0/00, globulins normaux et isolés ; dans les autres échantillons, amas énormes : il n'y a pour ainsi dire plus de globulins isolés.

233. — 130 grammes de muscles de chien (avec tissu cellulaire et graisse) ont été hachés et desséchés à l'étuve à 56° pendant 4 jours. Le résidu a été traité par l'éther : l'éther par évaporation a donné un résidu graisseux jaunâtre qui a été redissous dans l'éther. Après évaporation, le résidu a été laissé 48 heures à l'étuve à 56° et dissous dans 130 grammes de NaCl — Δ 0°56, après avoir été émulsionné en présence de 0,10 de carbonate de soude. On obtient une émulsion laiteuse après filtration sur ouate : 1 centimètre cube de cette émulsion correspond à 1 gramme de muscle. On voit combien doit être faible la quantité de graisse contenue dans cet extrait.

Sang de chien citraté à 1 0/0. — Examen au bout de 60 minutes.

1 cmc. extrait + 24 cmc. sang : globulins allongés, libres ou en amas de 5 à 6.

1 cmc. extrait + 9 cmc. sang : tous les globulins sont en amas de 15 à 20, forme allongée.

Sang du même chien oxalaté à 2 0/00.

1 cmc. extrait + 24 cmc. sang ; au bout de 45 minutes tous les globulins, de forme allongée, sont en amas énormes contenant des centaines d'éléments.

Dans la préparation à 1 p. 10, les globulins ont disparu du plasma ; ils sont tombés au fond du tube.

241. — *Extrait éthéré de tissus de l'expérience* 233, *stérilisé à l'autoclave* à 110°.

Sang de chien oxalaté à 2 0/00 :

1 cmc. extrait + 24 cmc. sang ; au bout de 30 minutes l'agglutination est presque totale : après 60 minutes on ne trouve plus un seul globulin isolé.

Sang citraté à 1 0/0.

1 cmc. extrait + 24 cmc. sang : au bout de 60 minutes les amas sont moins volumineux qu'en milieu oxalaté et il persiste quelques globulins isolés, normaux.

On remarquera que ces extraits sont en réalité très peu concentrés : les extraits aqueux sont faits rapidement, les extraits éthérés sont à 1 0/0, et je les ai fait agir à 1 p. 2.500. Ils se sont montrés très actifs, agglutinant et altérant les globulins. Il n'y a pas de différence suivant qu'ils proviennent d'un animal de même espèce ou d'espèce différente.

Ces extraits se comportent absolument comme les colloïdes organiques ou métalliques étudiés précédemment. Les expériences 194, 194 *bis*, 322 montrent bien que l'agglutination est d'autant plus faible qu'il y a moins de citrate dans le mélange.

Si l'on veut bien rapprocher ces expériences de celles qui sont rapportées dans la première partie de ce chapitre et dans le chapitre III, sur l'action des anti-coagulants sur les globulins, il me semble que le mécanisme de l'agglutination et de l'altération des globulins apparaîtra clairement.

J'ai montré que les globulins s'altéraient et s'agglutinaient d'autant moins vite que le sang avait été moins souillé par le contact des tissus.

J'ai montré que le citrate et l'oxalate empêchaient d'autant mieux l'agglutination et l'altération des globulins que leur taux était plus élevé. J'ai émis l'hypothèse que tout se passait comme si le sang contenait une substance agglutinante et altérante qui était neutralisée par le citrate ou l'oxalate.

Je viens de montrer le rôle agglutinant et altérant d'un grand nombre de colloïdes organiques, et le pouvoir protecteur du citrate et de l'oxalate à l'égard de ces colloïdes. J'ai, d'autre part, trouvé dans les extraits de tissus, des substances douées de pouvoir agglutinant et altérant à l'égard des globulins. Je me crois en droit de conclure que ce sont ces substances des tissus, que le sang rencontre lorsqu'on le recueille sans précautions spéciales, qui agglutinent et détruisent les globulins : les globulins ne sont pas les éléments extraordinairement délicats, fragiles, qu'on ne peut qu'entrevoir en dehors de l'organisme : cette délicatesse,

cette fragilité, ils l'empruntent au contact des tissus : les tissus représentent, par rapport à eux, de véritables anti-corps (1).

Cette action des tissus est capitale : elle commande toute la technique, et justifie toutes les critiques que j'ai adressées aux travaux exécutés sur du sang cutané, qui ne peuvent donner aucun résultat exact, qualitatif ou quantitatif.

Différents liquides de l'organisme sont agglutinants pour les globulins (2).

La salive et le suc gastrique de même espèce se sont montrés agglutinants, ainsi que la pepsine et le suc pancréatique, dans des expériences commencées relativement à l'action des ferments sur les globulins.

J'ai fait un certain nombre de recherches avec l'urine.

316. — Urine d'un *chien* ayant reçu la veille une injection intra-veineuse d'argent colloïdal. Urine légèrement albumineuse. Action de l'urine chauffée à l'ébullition et non chauffée sur le sang du chien oxalaté 2 0/00.

Δ de l'urine, — 2°20.

1 cmc. urine + 9 cmc. sang, 1 heure, agglutination forte.

1 cmc. urine chauffée et filtrée + 9 cmc. sang 1 heure, agglutination légère.

331. — Urine de *chien* non albumineuse.

Sang du même chien oxalaté à 2 0/00.

1 cmc. urine + 9 cmc. sang, Δ — 0°42.

Contact 1 heure : tous les globulins sont arrondis, à bords irréguliers, pas de trace d'agglutination.

335. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Urine du même chien : pas d'albumine.

1 cmc. urine + 9 cmc. sang, 1 h. 15, pas d'agglutination : globulins altérés.

363. — *Chien* de l'obs. 361, intoxication uranique.

Action de l'urine du chien (albumineuse) sur le sang de l'animal lui-même, oxalaté 2 0/00.

(1) On sait que les tissus renferment également des coagulines à l'égard du plasma et des agglutinines à l'égard des globules rouges (L. Loeb., Noguchi, etc.).

(2) Un chapitre spécial est consacré à l'action des sérums (Voir chapitre X).

1 centimètre cube urine + 9 centimètres sang, 1 heure, agglutination complète.

354. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.
Urines humaines, P adulte, normal.
— D^{10} 3 grammes d'albumine, bouillie
— B_2 femme 30 ans, bacillose, albumine.
— B^{11} insuffisance aortique, traces d'albumine.
Urine d'un chien normal, pas albumineuse. Durée du contact 60 minutes.

9 cmc.	sang	+ 1 cmc.	P		agglutination	moyenne.
9	—	+ 1 —	D^{10} (bouillie)		—	nulle.
9	—	+ 1 —	D^{10}		—	moyenne.
9	—	+ 1 —	B_2		—	forte.
9	—	+ 1 —	B^{11}		—	moyenne.
9	—	+ 1 —	urine chien		—	nulle.

351. — N° 1, urines normales d'individu adulte après le repas.
N° 2, Urines homme, néphrite chronique (3 gr. d'albumine par litre).
N° 3, — femme, tuberculeuse, albuminurie légère.
N° 4, — femme, insuffisance aortique, traces d'albumine.
N° 5, — chien, non albumineuse.
Sang de chien oxalaté à 2 0/00.
1 cmc. urine + 9 cmc. sang, 1 h. 15.
N° 1, agglutination moyenne.
N° 2, non chauffée, agglutination forte.
— Chauffée ébullition, agglutination nulle.
N° 3, agglutination forte.
N° 4, agglutination moyenne.
N° 5, agglutination nulle.

340. — Urine humaine (125) : adulte normal après le repas ; pas d'albumine.

Sang de chien.

1 cmc. urine + 9 cmc. sang citraté à 5 0/00.
1 — + 9 — à 10 0/00.
1 — + 9 — oxalaté à 2 0/00.
60 minutes, pas d'agglutination.

358. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.
Urine humaine, pas albumineuse, contenant de la mucine ; 9 centimètres cubes sang + 1 centimètre cube urine, 1 heure, agglutination forte.

Je n'insiste pas sur les altérations morphologiques des globulins, qui, dans certaines de ces expériences, peuvent dépendre d'un

défaut d'isotonie. Un fait intéressant est que l'urine de chien normal, dans les conditions d'expérience ou je me suis placé, n'agglutine pas, tandis que l'urine pathologique (316,363) agglutine, alors que le sérum au même taux n'est pas agglutinant. De plus, l'urine albumineuse, chauffée et filtrée, peut être encore agglutinante.

La bile agit surtout sur la morphologie des globulins : elle est peu agglutinante.

246. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.
Bile du même chien pure et diluée avec son volume d'eau salée physiologique.
A. 1 cmc. bile + 24 cmc. sang = 1 p. 25.
B. 1 — diluée + 24 cmc. sang = 1 p. 50.
En A, 60 minutes, globulins tous déformés ; altérations polymorphes.
En B, lésions un peu moins intenses.

255. — *Sang de chien* citraté à 1 0/0 et oxalaté à 2 0/00.
Bile du même chien, diluée avec son volume d'eau salée physiologique, contact de 30 minutes.
1 cmc. bile diluée + 9 cmc. sang citraté = 1 p. 20.
Globulins très altérés, irréguliers, mais pas d'agglutination.
1 cmc. bile diluée + 24 cmc. sang citraté = 1 p. 50.
Globulins normaux.
1 cmc. bile diluée + 9 cmc. sang oxalaté.
Agglutination par paquets de 10 à 15.
1 cmc. bile diluée + 24 cmc. sang oxalaté.
Globulins normaux.

Le lait (même espèce ou espèce différente), cru ou bouilli, a un pouvoir agglutinant intense.

355. — *Sang de chienne* oxalaté à 2 0/00.
Lait de la chienne ayant fourni le sang.
Lait de femme cru.
Lait de femme bouilli.
1 centimètre cube de ces 3 échantillons + 9 centimètres cubes de sang. 1 h. 30. Agglutination complète dans les 3 tubes.

354. — *Sang de chienne* oxalaté à 2 0/00.
Lait de la même chienne et lait de femme. Laits écrémés.
1 cmc. lait chienne + 9 cmc sang.
1 cmc. lait femme + 9 cmc, sang. 1 h. 30. Agglutination complète.

359. — *Sang de chien* incoagulable par injection intra-veineuse d'extrait de sangsue, oxalaté à 2 0/00.

Lait de chienne, écrémé par centrifugation 60 minutes et coupé de son volume Nacl 7 0/00.

9 cmc. sang + 1 cmc. lait coupé, cru.

9 — sang + 1 — lait, coupé bouilli. 60 minutes. Agglutination intense : globulins allongés

J'ai également étudié deux extraits de tissus et un sérum en raison de leur action spéciale sur la coagulation du sang : l'extrait de sangsue, l'extrait de muscles d'écrevisse, le sérum d'anguille.

L'extrait de sangsue préparé par ébullition dans l'eau (1 tête de sangsue desséchée pour 5 cmc.) est agglutinant sur le sang pur et sur le sang oxalaté.

L'extrait de muscles d'écrevisse préparé selon la technique de Delezenne (1 cmc. pour 9 cmc. sang oxalaté 2 0/00), le sérum d'anguille (0 cmc.2 pour 9 cmc.8 sang oxalaté 2 0/00) donnent en 60 minutes une agglutination complète avec grosses altérations morphologiques. La réaction n'a pas lieu en milieu citraté à 1 0/0.

§ 3. — Agglutination suivant les espèces animales.

Les globulins des différentes espèces animales ne se laissent pas agglutiner avec la même facilité.

J'ai fait un certain nombre de recherches sur le sang d'âne (1). J'ai opéré sur des sangs citratés de 10 à 1 0/00, oxalatés à 1 et 2 0/00 ; avec la peptone et diverses albumines je n'ai pas pu produire d'agglutination ; avec les échantillons très peu citratés, j'ai eu de la coagulation : j'ai pu produire l'agglutination avec la saponine.

Ces faits sont à rapprocher de la très grande stabilité du plasma d'âne recueilli dans les conditions où je me place ; bien souvent j'ai vu, dans le plasma pur, la coagulation se produire, les globulins restant isolés : chez le chien, au contraire, j'ai toujours vu l'agglutination des globulins précéder la coagulation.

511. — *Sang d'âne* oxalaté à 2 0/00 (oxalate de Na dans NaCl 9 0/00).

(1) Je rappelle que je me suis servi d'ânes ayant reçu des injections de toxines tuberculeuses.

Solutions aqueuses. Contact 1 h. 20.

9 cmc. sang + 1 cmc. peptone	5 0/0 =	agglutination nulle.
9 — + 1 — ovalbumine	2 0/0 =	—
9 — + 1 — gomme arabique	1 0/0 =	—
9 — + 1 — électrargol stabilisé	=	—

546. — *Sang d'âne* citraté à 1 0/00 et 2 0/00 (pour 90 cmc. sang 10 cmc. solution de citrate à 1 et 2 0/0 dans NaCl).

1° 1 cmc. électrargol stabilisé, platine colloïdal électrique, hydrate de fer colloïdal, mastic, pour 9 cmc. de sang.

Examen 1 h. 15.

Série citratée 1 0/00 = coagulation.

— 2 0/00 = agglutination nulle.

2° 1 centimètre cube : sérums chauffés lapin, cobaye, chien pour 9 cmc. sang. A 1 0/00 citrate, coagulation sauf avec le sérum de cobaye.

A 2 0/00 citrate, pas d'agglutination.

3° Solutions de peptone, gélatine à 1 0/0, de gomme arabique à 2 0/0 dans l'eau distillée, d'ovalbumine à 2 0/0 (NaCl), de lécithine 1 0/0 (CO^2 Na^2), ricine 1 0/0 (NaCl) : 1 cmc. pour 9.

A 1 0/00 citrate, coagulation.

A 2 0/00 — pas d'agglutination.

4° Saponine 1 0/0 dans NaCl.

1 centimètre cube pour 9 ; 30 minutes.

A 1 0/00 citrate, coagulation.

A 2 0/00 citrate, agglutination faible : globulins très altérés, arrondis, irréguliers, granuleux.

Je n'ai fait que des observations très restreintes sur le lapin et le chat, en raison des petites quantités de sang dont il est possible de disposer ; ces expériences montrent néanmoins que l'agglutination est possible chez ces espèces, mais n'est pas la même que chez le chien.

539. — *Sang de lapin* oxalaté à 2 0/00 (oxalate Na).

Solutions de peptone de Witte et gélatine à 1 0/0 dans l'eau, sérums d'âne et de lapin chauffés à 55-58°, électrargol stabilisé.

Contact 60 minutes.

5 cmc. sang + 0 cmc. 5 peptone	= 1 0/00.	Agglutination nulle.
5 — + 0 — 5 gélatine	= —	—
5 — + 0 — 5 sérum âne	= —	—
5 — + 0 — 5 sérum lapin	= —	—
5 — + 0 — 5 électrargol	— —	Agglutination moyenne.

542. — *Sang de lapin* oxalaté à 2 0/00.

Solutions de gélatine et de gélose 1 0/0, gomme arabique 2 0/0, électrargol stabilisé, ferrocyanure de cuivre colloïdal, hydrate de fer colloïdal.

Mélanges à 1 p. 9. Contact 2 h. 30.

Agglutination faible avec l'électrargol, nulle avec la gélatine, nulle ou douteuse avec les autres.

552. — *Sang de lapin* oxalaté à 2 0/00.

Saponine dans l'eau salée à 1 0/0, 1 0/00, 2 0/00.

0 cmc. 5 saponine à 1 0/0 + 4 cmc. 5 sang = 1 0/00. Examen au bout de 3 heures. Hémolyse et dissolution complète des globulins.

0 cmc. 5 saponine à 1 0/00 + 4 cmc. 5 sang = 1 p. 10.000. Examen au bout de 6 heures. Hémolyse faible. Agglutination moyenne.

0 cmc. 5 saponine à 2 0/00 + 4 cmc. 5 sang = 1 p. 20.000. Ni agglutination, ni hémolyse en 6 heures.

551. — *Sang de chat.* Chat à jeun depuis au moins 24 heures.

Sang oxalaté à 1 0/00. Contact 120 minutes.

9 cmc. + 1 cmc. peptone 1 0/0 et électrargol. Agglutination nulle.

9 — + 1 — mastic. Agglutination moyenne.

9 — + 1 — saponine 1 0/0. Hémolyse. Masses granuleuses.

553. — *Sang de chat* oxalaté 2 0/00.

9 cmc. + 1 cmc. saponine 1/200. 3 heures. Hémolyse. Trace d'agglutination.

9 cmc. + 1 cmc. saponine 1/400. Même durée, ni hémolyse, ni agglutination.

Je rapporte une expérience unique sur le mouton ; j'ai montré chapitre III que les doses d'oxalate et de citrate utilisées étaient à la limite des doses suffisantes pour neutraliser l'action des tissus : malgré cela, en deux heures je n'ai eu aucune agglutination avec la peptone (Voir l'expérience correspondante *in vivo* chapitre IX).

575.— *Sang de mouton* oxalaté à 6 0/00 (oxalate AzH^4).

— citraté à 3 0/0.

Peptone à 10 0/0.

Saponine à 1 0/00.

Contact, 120 minutes.

1 cmc. de peptone et de saponine ne donnent aucune agglutination avec 9 centimètres cubes de sang oxalaté ou citraté.

Je me crois en droit de conclure de ces expériences que l'*agglutinabilité* des globulins représente un coefficient, une constante propre à chaque espèce animale ; on verra, chapitre IX, que dans les expériences *in vivo*, les réactions des globulins varient également suivant les espèces.

CHAPITRE VII

COLORATION VITALE DES GLOBULINS

Levaditi, dans un travail sur la leucémie myélogène, signale l'hypertrophie des plaquettes mise en évidence par un procédé de coloration vitale. Cet auteur recouvre une lame d'une solution alcoolique de brillant-krésyl-blau qu'il laisse sécher : il dépose ensuite une goutte de sang et recouvre d'une lamelle. J'ai suffisamment insisté dans les chapitres précédents sur l'action des tissus, du verre et de la température sur les globulins pour me dispenser de longs développements pour montrer qu'il ne saurait s'agir dans l'espèce que d'une coloration post-vitale. Les éléments représentés par Levaditi sont souvent en amas, de forme arrondie, tachetés de granulations bleues. J'ai répété l'expérience de Levaditi et j'ai vu des éléments répondant à la description de cet auteur. Les granulations ont un aspect irrégulier, cristallin ; elles sont superficielles et donnent l'impression d'un précipité et non d'une teinture. Le fait,queles granulations sont très rares ou absentes quand on remplace la solution alcoolique de bleu par une solution citratée, vient encore à l'appui de cette opinion ; le citrate a empêché la coagulation et la précipitation du bleu, dont il n'empêche pas l'absorption, comme je le montrerai au cours de ce chapitre.

Quand on ajoute une trace de matière colorante quelconque à une goutte de sang frais, il est fréquent d'obtenir un aspect granuleux non seulement sur les globulins, mais encore dans

(1) J'ai eu l'occasion d'observer deux cas de leucémie myélogène ; j'ai pris plusieurs fois chez ces deux malades du sang de la veine, dans d'excellentes conditions. J'ai noté à tous les examens une diminution numérique des globulins, je n'ai pas constaté d'hypertrophie de ces éléments.

certains cas au niveau des leucocytes et des globules rouges ; dans bien des cas, il s'agit non pas d'une teinture véritable de granulations, mais d'une précipitation de la couleur sur la superficie des éléments, en particulier des globulins ; un grand nombre de matières colorantes donnent ainsi des précipités sur les globulins : violet de méthyle, rouge neutre, bleu nil, etc., etc.

Les mêmes observations peuvent s'appliquer aux travaux de Puchberger, Rosin et Bibergeil.

Tout récemment, H. C. Ross (1), en se servant de sang citraté, a observé à l'intérieur des plaquettes de grosses vacuoles bleues, mais il s'agit d'une coloration agonique. Ross a utilisé du sang du doigt, et il l'a examiné selon la méthode de Deetjen, au contact de l'agar, c'est-à-dire d'une substance éminemment nocive pour le globulin, et dans du sang mélangé à du chlorhydrate de morphine. Dans des recherches exécutées en juillet et août 1909, j'ai observé une coloration des globulins par différents bleus, coloration tardive et agonique, différente de la coloration vitale par le rouge neutre que j'ai étudiée avec M. Achard (2).

La technique que j'ai employée pour l'étude des colorations vitales est absolument la même que celle que j'ai exposée pour l'étude de l'action des différentes substances, colloïdales ou non, sur les globulins : la première condition à réaliser pour obtenir une coloration vitale, c'est d'avoir des globulins vivants ; je rappelle que j'ai toujours pris le sang à l'intérieur des vaisseaux, à l'abri des tissus, qu'il a été maintenu au contact de la paraffine et à une température de 38°.

J'ai utilisé le plasma pur, le plasma stabilisé par les citrates et oxalates alcalins ; dans quelques observations, j'ai fait agir d'abord la matière colorante sur le sang pur, et au bout d'un certain temps, je citratais ou oxalatais pour éviter la coagulation.

Pour les raisons que j'ai indiquées, je n'ai pas déplasmatisé les globulins ; cette manière de faire me paraît dans le cas présent avoir un autre avantage : les matières colorantes précipitent

(1) H. C. Ross, *The Lancet*, 4 septembre 1909, p. 710.

(2) Ch. Achard et M. Aynaud, Coloration vitale des globulins. *C. R. Soc. Biologie*, 14 novembre 1908, p. 442.

facilement en présence des solutions salines, de l'eau salée en particulier, et dans ces conditions on observe à la surface des éléments, globules rouges aussi bien que globulins, des précipités qui n'ont rien de commun avec une coloration vitale. Le citrate et l'oxalate n'ont pas l'inconvénient de précipiter les matières colorantes ; ils évitent même leur précipitation comme la coagulation des albumines du plasma ; ils ne semblent pas d'ailleurs gêner l'absorption des matières colorantes ; je m'en suis assuré sur des hématies et des trypanosomes.

Les substances colorantes utilisées l'étaient à un taux très faible : le plus souvent leur taux dans le sang variait entre 1/5.000 et 1/25.000. Elles étaient soit en solution dans l'eau salée, et dans ce cas les solutions étaient préparées extemporanément, soit en solution aqueuse, et dans ce cas l'isotonie du mélange plasma + solution colorante était obtenue en utilisant des solutions d'oxalate à 2 0/0 dans l'eau salée à 9 0/00.

Dans le plus grand nombre des expériences rapportées à la fin de ce chapitre, j'ai ajouté 1 centimètre cube de solution colorante à 9 centimètres cubes de sang pur ou stabilisé.

D'après leur action sur les globulins, les substances colorantes peuvent être divisées en deux catégories, selon qu'elles produisent ou ne produisent pas une coloration vitale. Dans la première catégorie, à l'heure actuelle, on peut faire rentrer le rouge neutre et un certain nombre de bleus basiques du groupe bleu de méthylène.

La deuxième catégorie est plus largement représentée et pourrait sans doute être encore étendue : l'action sur les globulins de ces couleurs ne diffère pas de celles des autres substances étudiées aux chapitres V et VI. Les solutions colorantes sont plus ou moins nocives pour les globulins : le lichtgrün, la pyronine, le vert de méthyle, l'orange G. à 1/5000 sont relativement inoffensifs, tandis qu'à des taux plus faibles le violet de méthyle, le violet dahlia, le rouge-congo, le trypanroth, le bleu de quinoléine, l'éosine, l'iod-éosine, la safranine produisent des altérations morphologiques, de degrés variables suivant les substances employées, le taux de ces substances ou la durée de l'expérience.

Ces altérations sont du même ordre que celles produites par les substances non colorantes. On peut observer des formes d'altérations longues ; les globulins sont extrêmement allongés, presque filamenteux ; il y en a d'irréguliers, renflés en certains points, plus ou moins moniliformes.

Une des formes d'altérations longues les plus fréquentes est celle que reproduit la figure 6 ; elle représente des globulins de chien, citratés à 1 0/0 et maintenus 60 minutes à 38°, en présence de bleu de Prusse (1 centimètre cube d'une solution de bleu de Prusse soluble pour Histologie dans l'eau salée pour 9 centimètres cubes de sang). Les globulins ont des formes étirées, se terminant par un pseudo-flagelle ; on remarquera que les globulins ainsi altérés sont beaucoup plus pâles que les globulins normaux ; ils sont moins réfringents et tendent à se confondre avec le plasma ambiant ; le halo périphérique est à peine marqué.

Les formes d'altérations courtes sont d'observation plus fréquente, formes arrondies simples, formes arrondies granuleuses ou avec bords irréguliers analogues aux figures 3, 4 et 5.

Enfin un grand nombre de substances colorantes agglutinent les globulins : trypanroth, carmin d'indigo, safranine, éosine, etc. ; elles se comportent exactement comme les autres solutions colloïdales et je ne pourrai que répéter ce que j'ai déjà écrit sur l'agglutination des globulins.

Le lecteur trouvera à la fin de ce chapitre le détail des observations sur les matières colorantes ne produisant pas de coloration vitale (pages 108-113).

Avec le rouge neutre, on peut, comme je l'ai indiqué avec M. Achard, observer une coloration vitale. L'observation peut être facilement faite sur du plasma d'âne pur dans des conditions de température physiologique ; elle ne réussit pas sur du plasma refroidi.

317. — 9 cmc. 5 de sang d'âne sont recueillis dans un tube paraffiné de 15 centimètres cubes contenant 0 cmc. 50 d'une solution de rouge neutre à 1 0/00 dans l'eau salée physiologique tiède. Le sang contient 1 p. 20.000 de rouge. Température du laboratoire 22°. Dans ces conditions, le refroidissement au bout de 15 minutes est négligeable.

Il est facile de constater au bout de 15 minutes de grosses granulations rouges, au nombre de 2 à 3 par élément, à l'intérieur de globulins absolument normaux.

Un autre tube, préparé dans les mêmes conditions, a été mis dans un mélange de glace et de sel. La température était de 5° au bout de 15 minutes. Les globulins présentaient les altérations ordinaires dues au froid, mais sans la moindre coloration.

Ces granulations, au nombre de deux à trois par élément, sont absolument sphériques et régulières ; elles ont à peu près la taille des granulations éosinophiles des leucocytes ; par la mise au point il est facile de s'assurer qu'elles sont à l'intérieur de l'élément,et non pas à la surface ; on les observe dans des éléments normaux morphologiquement : il s'agit donc bien de coloration intra-vitale.

Elles peuvent être observées facilement sur le sang citraté ou oxalaté, et j'ai pu ainsi constater leur existence chez le chien (1), le lapin, le mouton, le chat ; il s'agit donc d'une formation très générale, puisque je l'ai observée sur toutes les espèces que j'ai examinées à ce point de vue.

Les globulins fluorés ne prennent pas le rouge neutre : il en est de même des globulins citratés ou oxalatés, lorsqu'ils ont été au préalable altérés,soit par le contact des tissus, soit par un long séjour en dehors de l'organisme.

La coloration par le rouge neutre ne se manifeste pas sur tous les éléments d'un même échantillon de sang : par champ microscopique, on n'observe jamais qu'un petit nombre de spécimens teintés. Enfin cette coloration est passagère, et sur des globulins citratés ou oxalatés, elle a toujours disparu après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve. La coloration par le rouge neutre ne réussit qu'à condition d'utiliser des solutions de rouge très étendues, de 1/20.000 à 1/25.000. Avec des solutions plus concentrées, les globulins présentent des altérations morphologiques diverses des différents types signalés plus haut, mais pas la moindre vacuole colorée.

(1) La figure 19 de la planche en couleurs représente des globulins de chien citratés 1 0/0, colorés par le rouge neutre à 1/25.000.

Ces différentes constatations montrent qu'il s'agit bien d'une coloration intra-vitale, liée à l'activité protoplasmique. Quelle est la signification de ces formations ? S'agit-il de vacuoles, ou de granulations, permanentes ou temporaires ? Autant de questions auxquelles il est difficile de répondre, mais il n'est peut-être pas sans intérêt de rapprocher ces formations d'autres analogues obtenues avec le rouge neutre sur différents éléments.

H. Mouton a décrit chez les amibes des vacuoles digestives, à contenu acide, se colorant par le rouge neutre en rouge foncé. On sait que le rouge neutre en milieu alcalin devient jaune orangé. Je me suis demandé si les vacuoles ou granulations observées chez les globulins étaient une formation du même ordre : j'ai essayé d'autres couleurs indicatrices susceptibles de virage en présence des acides, mais je n'ai obtenu aucune coloration (rouge Congo, alizarine sulfo-conjuguée).

Renaut, dans une série de travaux récents, a montré que les cellules du tissu conjonctif avaient la propriété de fixer le rouge neutre sous forme de grains volumineux qui caractérisent la fonction rhagiocrine. J'ai répété les expériences de Renaut sur le mésentère ou l'épiploon de petits animaux de laboratoire, et j'ai pu constater la parfaite analogie des granulations rhagiocrines des cellules du tissu conjonctif avec les granulations des globulins. Peut-être s'agit-il de deux formations analogues ou voisines ?

La question cependant est très complexe ; on sait que les mastzellen, qu'il est si facile d'observer dans la sérosité péritonéale du rat blanc, fixent d'une manière intensive le rouge neutre : de plus, dans les vaisseaux de l'âne et du chien, j'ai toujours constaté des leucocytes fixant le rouge neutre et qui n'étaient pas des mastzellen. Or, jamais je n'ai pu mettre en évidence dans les globulins une granulation analogue aux granulations leucocytaires de la classification d'Ehrlich.

Chez les trypanosomes, on a également signalé la présence de granulations ou de vacuoles avec le rouge neutre. J'ai pu constater sur Trypan. Pecaudi, Brucei, equinum, que ces vacuoles, par leur morphologie, étaient absolument analogues à celles des globulins. Il est facile sur les trypanosomes fixés de colorer

par le Giemsa ou le Borrel de grosses granulations qui se teignent en bleu ; il est possible que ce soient les mêmes granulations qui prennent le rouge en coloration vitale. Mais, pour ce qui concerne le globulin, je n'ai jamais constaté sur les éléments fixés de pareilles granulations.

Je ne puis pas donner une opinion définitive sur la signification des formations que je viens de décrire dans le globulin ; une seule chose est incontestable, c'est qu'il s'agit d'un processus vital, peut-être sécrétoire. Je fais remarquer que le rouge neutre se comporte par rapport aux globulins comme par rapport aux autres cellules : en coloration strictement vitale, on obtient une coloration parcellaire (granules ou vacuoles), mais pas de coloration diffuse.

Le plasma sanguin citraté ou oxalaté, à l'étuve à 38°, réduit le bleu de méthylène et un certain nombre d'autres bleus basiques de composition voisine. Si on examine les globulins dans la zone réduite, on n'observe pas de coloration de ces éléments : il n'en est plus de même lorsqu'on examine les éléments contenus dans la zone non réduite, à la partie supérieure du tube, au contact de l'air. Voici une expérience où j'ai suivi les modifications morphologiques et tinctoriales de sang de chien citraté en présence de brillant-krésyl-blau, bleu de méthylène et bleu azur.

463. — *Sang de chien*, 2e saignée, citraté à 1 0/0.

Solutions de brillant-krésyl-blau, bleu azur I et bleu de méthylène de Höchst à 0,50 0/0 dans NaCl 9 0/00.

Deux séries : A = 0 cmc. 2 de colorant pour 10 cmc. sang = 1/10.000.
B = 1 — — = 1/2.000.

Les globules rouges tombent au fond, et au-dessus du culot rouge apparaît une zone de réduction du bleu. Par abréviation, R signifie la zone réduite, NR la zone non réduite, bleue.

Premier examen de 1 h. 15 à 1 h. 30 après la saignée.

Brillant-krésyl-blau.

Série A. — En R : presque tous les globulins sont de forme normale allongée, quelques très rares exemplaires avec granulations colorées.

En NR : les globulins sont arrondis, quelques-uns à bords irréguliers.

Série B. — La réduction est peu avancée et on a le même aspect que dans série A en NR.

Dans les deux séries, il n'y a pas de coloration des globules rouges.

Bleu de méthylène.

Série A. — En R : pas de coloration des globulins ; ils sont moins bien conservés qu'avec le brillant-krésyl-blau.

En NR : tous les globulins sont arrondis et à bords irréguliers, crénelés : il n'y a que très peu d'exemplaires à vacuoles colorées.

Série B. — En R : globulins à peu près normaux, sans coloration, hématies verdâtres.

En NR : globulins irréguliers avec grosses granulations bleues.

Bleu azur.

Série A. — En R : même résultat qu'avec le brillant-krésyl-blau.

En NR : les altérations sont moins marquées que dans les tubes homologues au brillant-krésyl-blau et au bleu de méthylène.

Série B. — En R : globulins presque tous normaux, granulations très rares ; quelques hématies en violet.

En NR : globulins arrondis ou ovalaires contenant plusieurs gros granules bleus.

2e examen de 2 h. 45 à 3 heures après la saignée.

La réduction est beaucoup plus avancée, sauf avec le bleu de méthylène.

Brillant-krésyl-blau.

Série A. — En B : globulins normaux et incolores.

En NR : globulins arrondis ou irréguliers, granulations bleues.

Série B. — En R : un tiers des globulins normaux.

En NR : globulins arrondis, irréguliers. Peu d'exemplaires à granulations.

Bleu azur.

Série S. — En R : à peu près tous les globulins normaux et incolores.

En NR (zone très petite) : globulins très altérés, ovalaires avec grosses granulations bleues, 3 à 4 par exemplaire.

Série B. — Même résultat qu'avec le brillant-krésyl-blau.

Bleu de méthylène.

Série A. — Même résultat qu'avec le bleu azur et forte réduction.

Série B. — Réduction nulle. Globulins très altérés.

Cette expérience, que j'ai répétée plusieurs fois avec le même résultat, montre le très curieux phénomène de globulins se présentant sous deux aspects différents dans le même tube. Dans la zone de plasma inférieur, zone réduite, les globulins ont leur

aspect normal ou présentent le minimum d'altérations : dans la zone supérieure, plasma bleu, les globulins sont altérés, ovalaires ou ronds, et alors que les globulins normaux de la zone réduite sont incolores, les globulins altérés de la zone supérieure contiennent de gros granules bleus, jusqu'à cinq, six par élément. La taille de ces granules est variable et croît avec le temps : elle est également d'autant plus grande qu'il s'agit de globulins plus altérés.

Les différents bleus sont inégalement nocifs pour les globulins : le brillant-krésyl-blau et le bleu azur le sont moins que le bleu de méthylène.

Avec les bleus, il ne s'agit plus d'une coloration rigoureusement vitale, puisque la coloration ne se produit que sur des éléments altérés morphologiquement : il s'agit vraisemblablement d'une coloration agonique ou au moins liée à un début d'altération. J'ai constaté sur des trypanosomes (Tr. Brucei) des granules analogues, mais je les ai observés sur des exemplaires peu mobiles, et l'apparition de ces granules précède de peu la mort de ces parasites.

J'ai pu au cours de ces recherches faire une autre constatation : c'est la différence absolue dans la manière dont se comportent les globules rouges et les globulins par rapport au bleu de méthylène. On sait que les hématies se colorent en vert d'une manière diffuse. Bien que j'aie opéré sur des animaux en régénération sanguine, j'ai toujours constaté une ligne de démarcation absolue, entre hématies et globulins : je n'ai jamais vu de globulins se teindre en vert, ni de globules rouges présenter de granulations bleues. Avec le bleu azur, j'ai vu des hématies se teindre en violet diffus (1), mais je n'ai observé aucune forme de transition avec les globulins.

J'ai complété ces différentes recherches *in vitro* par quelques essais *in vivo* ; je ne suis pas arrivé à colorer de vacuoles par le rouge neutre en injection intra-vasculaire chez le chien, mais

(1) C. Sacerdotti, Sugli eritrociti dei mammiferi colorabili a fresco con l'azzuro di metilene. *Archivio per le Sc. Med.*, 1903, XXVII, p. 189.

le plasma était absolument incolore : le rouge neutre ne reste pas dans les vaisseaux, et se fixe immédiatement dans certains organes (pancréas, ganglions lymphatiques). Avec le bleu de méthylène, j'ai obtenu des résultats analogues à ceux que j'ai observés *in vitro* :

445. — *Chien*, 15 kil. Deux saignées antérieures ; reçoit en 1'30, 150 centimètres cubes dans la veine d'une solution de bleu de méthylène de Hochst à 1 0/0.

Mort rapide ; animal saigné *in extremis* ; les globulins sont arrondis, irréguliers avec gros granules bleus ; les hématies verdâtres. Le plasma était bleu intense.

Enfin un certain nombre de couleurs qui agglutinent les globulins *in vitro* ont la propriété en injection intra-veineuse de les faire disparaître temporairement de la circulation (V. chap. IX).

Documents expérimentaux.

238. — Solution de *rouge neutre* à 1 0/00 dans l'eau salée. *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

1 cmc. rouge + 24 cmc. sang = 1 p 25.000 de rouge.

Examen au bout de 4 heures ; globulins allongés, mobiles. Par champ d'immersion, on trouve 1 ou 2 exemplaires contenant une grosse granulation rouge foncé, régulièrement arrondie, à leur intérieur. Au bout de 5 h. 30, commencent à apparaître des altérations.

2 cmc 5 rouge + 22 cmc. 5 sang = 1 p. 10.000.

Au bout de 6 heures, les globulins sont très altérés : granulations rouges à leur intérieur au début de l'observation.

247. — *Sang de chien* oxalaté, conservé depuis 24 heures à l'étuve ; globulins arrondis, irréguliers, épineux.

1 cmc. rouge neutre 1 0/00 + 9 cmc. sang = 1 p. 10.000.

Après 1 heure de contact, pas une seule vacuole colorée.

248. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Durée du contact 4 h. 30.

Matières colorantes dans l'eau salée physiologique ; 1 centimètre cube solution + 9 centimètres cubes sang.

Alizarine sulfonée, 1 0/0.

1 p. 2.500, pas de coloration. Un quart des globulins est d'aspect normal.

Thiazinroth, 1 0/00.

1 p. 10.000, altérations très légères, pas de coloration.

Bleu de quinoléine, — de 1 0/00.

A 1 p. 10.000, altérations très prononcées, pas de coloration.

Violet Dahlia, 1 p. 500.

1 p. 5.000, pas de coloration, altérations très marquées.

Bleu Victoria, 1 0/00.

1 p. 10.000. Pas de coloration, altérations minimes.

242. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Durée du contact 5 heures.

Violet de méthyle à 1 0/00 dans l'eau salée.

A 1 p. 2.500, 1 p. 5.000, aucune coloration, mais altérations morphologiques considérables. A 1 p. 10.000 et 1 p. 25.000 les altérations sont moins marquées, mais aucune coloration.

Bleu Nil à 1 p. 100 dans l'eau salée.

A 1 p. 2.500, 1 p. 5.000 et 1 p. 12.500, aucune coloration, altérations légères.

253. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00, mis en contact avec les solutions colorantes à 11 heures du matin. Examens de 4 à 5 heures de l'après-midi.

Rouge Congo à 1 0/00 dans l'eau salée 7 0/00.

1 centimètre cube rouge Congo + 9 centimètres cubes sang = 1 p. 10.000.

1 — — + 24 — = 1 p. 25.000.

Aucune coloration, globulins altérés : formes contractées et étirées : la moitié seulement de forme normale.

Bleu d'aniline : 1 0/00 dans l'eau salée 7 0/00.

1 centimètre cube bleu + 9 centimètres cubes sang = 1 p. 10.000.

1 — + 24 — = 1 p. 25.000. Pas de coloration, mêmes altérations des globulins.

Bleu de méthylène à 1 0/00 dans eau salée 7 0/00.

1 centimètre cube bleu + 9 centimètres cubes sang = 1 p. 10.000.

1 — + 24 — = 1 p. 25.000. Pas de coloration. Réduction du bleu. Presque tous les globulins sont normaux : très peu de formes altérées (Examen dans la zone réduite).

252. — *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00.

Solution de *trypanroth* à 1 0/00 dans l'eau salée à 7 0/00.

1 centimètre cube trypanroth + 9 centimètres cubes sang = 1 p. 10.000.
1 — + 24 — = 1 p. 25.000.
Examen en 1 heure et 1 h. 30. Aucune coloration. Altérations morphologiques, même à 1 p. 25.000 atteignant la moitié des globulins.

431. — *Sang de chien* (2e saignée), citraté 1 0/0.
Solutions dans l'eau salée de *bleu d'aniline* 1 0/0, *trypanroth* 1 0/0, *carmin d'indigo*, 1 0/0. Durée du contact, 1 heure.
9 cmc. de sang + 1 cmc. de bleu = 1 0/00.
Pas de coloration.
Globulins arrondis, traces d'agglutination.
9 cmc. de sang + 1 cmc. de trypanroth = 1 0/00.
Pas de coloration. Globulins arrondis.
Agglutination moyenne.
9 cmc. de sang + 0 cmc. 5 d'indigo = 0, 5 0/00.
Ni coloration, ni agglutination : un certain nombre de globulins normaux.
9 centimètres cubes de sang + 1 centimères cube d'indigo.
Globulins plus altérés. Pas de coloration.

438. — *Sang de chien* (intoxication phosphorée légère), oxalaté à 2 0/00.
Solutions : *Brun Bismark*, dans l'eau salée 1 0/00
Indigo-carmin, — à saturation
Trypanroth, — 1 0/0
Contact, 1 heure.
9 cmc. de sang + 1 cmc. brun.
Pas de coloration, pas d'agglutination, altérations minimes.
9 cmc. de sang + 1 cmc. trypanroth.
Agglutination complète, pas de coloration.
9 cmc. de sang + 1 cmc. indigo.
Agglutination complète, pas de coloration.

417. — *Chien*, 2e saignée.
Sang oxalaté à 2 0/00 et citraté à 1 0/0.
Bleu azur I à 0. 50 0/0 dans NaCl 9 0/00.
1 cmc. de bleu + 9 cmc. de sang oxalaté = 1 p. 2.000.
1 cmc. de bleu + 9 cmc. de sang citraté = 1 p. 2.000.
0 cmc. 2 de bleu + 9 cmc. de sang oxalaté = 1 p. 10.000.
Au bout de deux heures, réduction du bleu, sauf une très légère zone bleue à la surface.
Dans le tube oxalaté à 1 p. 2.000 de bleu, dans la zone bleue les globulins sont arrondis avec de gros granules bleus. Dans la zone de réduction, globulins allongés et incolores. Un grand nombre de globules rouges sont colorés en violet.

499. — *Chien*, 2e saignée. Sang oxalaté à 2 0/00.

Oxalate de potasse à 2 0/0 dans NaCl à 9 0/00.

Matières colorantes à 1 p. 500 dans l'eau distillée.

Deux séries : 1 cmc. de solution + 9 cmc. de sang = 1 p. 5.000.

0 cmc. 2 — + 9 cmc. — = 1 p. 25.000.

Contact 1 h. 30 à 1 p. 5.000 : 2 heures à 1 p. 25.000.

Vert de méthyle. 1 p. 5.000 et 1 p. 25.000, aucune coloration, globulins peu altérés.

Eosine Höchst. 1 p. 5.000, agglutination forte, pas de coloration.

1 p. 25.000, pas d'agglutination, pas de coloration.

Safranine O. — 1 p. 5000, agglutination complète, grosses altérations de globulins, pas de coloration.

1 p. 25.000, pas de coloration ni d'agglutination.

Violet de gentiane. — 1 p. 5.000 et 1 p. 25.000, aucune coloration, altérations morphologiques.

Vésuvine. — Mêmes résultats qu'avec le violet de gentiane.

507.— *Sang de chien* oxalaté à 2 0/00 (oxalate de Na en solution dans NaCl 9 0/00).

Matières colorantes en solutions aqueuses 1/500. Contact 1 h. 45.

Orange G. — 1 cmc. + 9 cmc. sang = 1/5.000. Aucune coloration : pas d'altérations.

Thionine. — 1 cmc. + 9 cmc. sang = 1/5.000. Réduction à peu près complète, pas de vacuoles colorées.

0 cmc. 2 + 9 cmc.8 = 1/25.000. Globulins presque tous normaux.

Bleu de toluidine. — 1 cmc. + 9 cmc. sang = 1/5.000. Aucune réduction : globulins extrêmement altérés, arrondis, irréguliers ; quelques-uns ont une teinte générale bleue ; pas de vacuoles, réduction légère.

0 cmc. 2 + 9 cmc.8 = 1/25.000. En NR ; globulins altérés, pas de vacuoles.

En R : presque tous les globulins normaux ; pas de vacuoles.

502. — *Chienne.* Intoxication par chlorhydrate de toluylendiamine.

Sang oxalaté à 2 0/00.

Matières colorantes en solution à 1/500 dans l'eau salée. Contact 60 minutes.

Lichtgrün. — 1 cmc. + 9 cmc. 8 sang = 1/5.000. Globulins peu altérés, incolores.

0 cmc. 2 + 9 cmc. 8 sang = 1/25.000. Globulins normaux, incolores.

Fett-Ponceau. — A 1/5.000 et 1/25.000, globulins sub-normaux, incolores.

Pyronine. — Aucune coloration ; à 1/5.000, altérations légères.

Rouge neutre. — 1/25.000. Résultat positif ; vacuoles en rouge.

440. — *Chien*, 14 kilos (une saignée 4 jours avant).

On ajoute 9 cmc. de sang pur à 1 cmc. de *carmin d'indigo*, *d'iod-éosine* à saturation dans l'eau salée et tiédie, et de *trypanroth* à 1 0/0.

Les tubes sont laissés 5 minutes à la température du laboratoire (18°) On ajoute ensuite à chacun 1 centimètre cube de citrate à 10 0/0 et on met à l'étuve 60 minutes.

Dans le tube iod-éosine les globulins sont arrondis, irréguliers, non teintés, isolés.

Dans le tube carmin d'indigo, agglutination moyenne et globulins très altérés.

Dans le tube trypanroth, agglutination forte et grosses altérations.

Un tube témoin avec NaCl 9 0/00. Globulins isolés, à peu près normaux.

430. — *Chienne*, 19 kilos (intoxication saturnine).

Solution d'indigo-carmin pour injection, à saturation dans l'eau salée.

Avant l'injection, une prise de sang est faite : 9 cmc. de sang citraté + 1 cmc. solution d'indigo sont laissés au contact une heure ; pas de coloration ni d'agglutination des globulins.

A 4 h. 25, injection de 120 centimètres cubes de la solution d'indigo.

Saignée A. 4 h. 30.

— B. 5 h. 15.

A. — Plasma bleu. Globulins normaux, isolés ; pas de coloration.

B. — Plasma incolore. Globulins normaux.

414. — *Chien*, 13 kilos ayant subi une saignée quatre jours auparavant.

Solution de rose de Magdala : 0 gr. 50 dans 50 centimètres cubes d'eau salée.

Injection à 3 h. 26. Saignée A à 3 h. 28, B à 4 heures ; l'animal n'a présenté aucun symptôme morbide.

A coagule en 12 minutes, B en 11 minutes ; dans les deux échantillons, la rétraction a été très faible ; le plasma était rose.

Dans les deux échantillons (citrate 1 0/0), ni leucopénie, ni disparition des globulins. Les globulins ont leur aspect normal : pas de coloration.

418. — *Chienne*, 22 kilos, ayant subi deux saignées antérieures.

A 3 h. 45, injection intra-veineuse de 200 centimètres cubes de rouge neutre à 1/500 dans l'eau salée.

Pas de phénomènes toxiques.

Saignées : A à 3 h. 55, B à 4 h. 30.

Les globulins sont de nombre et d'aspect normal, incolores. Il est à noter que le rouge neutre ne reste pas dans le sang et se fixe sur les ganglions lymphatiques et le pancréas.

441. — *Chien*, 14 kilos (une saignée antérieure), injection intra-veineuse en 6 minutes de 250 cmc de la même solution de rouge neutre ; saignée immédiate ; globulins normaux, non colorés ; plasma incolore ; pancréas et ganglions rouges.

422. — *Chien*, 8 kilos.

A 3 h. 45, prise de sang dans un rameau de l'artère fémorale :

Bl = 8.800.

A 3 h. 55, injection intra-veineuse de 100 centimètres cubes d'une solution de bleu d'aniline à 1 0,0 dans l'eau salée physiologique. L'animal s'agite et tombe dans un état de somnolence (saignée B 4 h.). Troisième saignée, C, à 5 heures, l'animal étant réveillé.

B. Plasma citraté 1 0,0 : leucopénie considérable et disparition des globulins.

Le plasma est bleu.

Le sang artériel contient 800 leucocytes par millimètre cube.

C. Le plasma est bleu.

Globulins de nombre inférieur de 1/3 ou 1/4 à la normale. Un grand nombre sont altérés, arrondis ou à bords irréguliers.

Il existe des granulations bleues dans un certain nombre d'éléments, même normaux, rappelant absolument les granulations que l'on peut obtenir avec le bleu de méthylène.

CHAPITRE VIII

ÉTUDE HISTOLOGIQUE DU GLOBULIN

§ 1. — Réactions tinctoriales.

J'ai exposé dans le chapitre I à quels résultats discordants étaient arrivés les auteurs au sujet des réactions histologiques des plaquettes-hématoblastes. Je n'ai point l'intention de revenir sur ce sujet et de comparer successivement les réactions colorantes de chacun des différents types de plaquette avec celles du globulin. Je tiens d'ailleurs à faire remarquer, que les principaux résultats auxquels je suis arrivé relativement à la constance morphologique et aux réactions du globulin ont été obtenus par l'examen du sang à l'état frais, sans l'intervention des réactifs ordinaires de l'histologie, fixateurs ou colorants.

Ce chapitre sera divisé en deux parties : la première sera consacrée aux réactions micro-chimiques, la deuxième à l'étude de l'action des différents fixateurs. J'ai étudié à ce point de vue les globulins des espèces suivantes : homme, chien, chat, mouton, âne, lapin, cobaye, rat blanc, souris, chauve-souris, porc.

Avec l'acide osmique je ne suis jamais parvenu à colorer la moindre granulation graisseuse, soit en recevant directement le sang dans l'acide osmique, soit en plongeant les lames dans les réactifs osmiés.

Ehrlich a signalé la présence de glycogène dans les plaquettes. En me servant de la gomme iodée ou des vapeurs d'iode, je suis toujours arrivé à des résultats négatifs, même avec des globulins de diabétique ou des globulins qui avaient été mis en présence de glycose ou de glycogène.

Avec les bichromates ou l'acide chromique, je n'ai jamais vu de granulations chromaffines.

Les globulins ne contiennent jamais de granulations analogues aux granulations leucocytaires. Chez l'homme en particulier, en utilisant le triacide d'Ehrlich, je n'ai jamais vu de granulations neutrophiles.

Chez aucun des mammifères cités plus haut, je n'ai jamais pu mettre en évidence des granulations basophiles, acidophiles et mast-granula.

En étalant du plasma citraté et oxalaté après fixation à la chaleur ou à l'alcool, il est facile de constater que les globulins ont une affinité colorante très faible pour les colorants plasmatiques : éosine, orange, iod-éosine. Avec ces différents colorants, ils apparaissent à peine teintés, beaucoup plus faiblement que le protoplasma leucocytaire ou que les globules rouges, et toujours sur un ton différent. Avec du sang étalé, fixé dans les mêmes conditions, en se servant de solutions aqueuses de bleu de méthylène, de bleu de toluidine, de thionine, de bleu Nil, les globulins sont colorés d'un bleu très pâle, bien différent de la teinte foncée des noyaux leucocytaires et du protoplasma de certains mononucléaires.

Un certain nombre d'auteurs ont soutenu que les plaquettes provenaient de la fragmentation ou du bourgeonnement de certains mononucléaires. Foa a fait justice de cette hypothèse en montrant qu'il s'agissait de pseudo-plaquettes, bien différentes des plaquettes de Bizzozero par la manière dont elles se comportent à l'égard de la pyronine : on sait que cette couleur basique a la propriété de colorer en rouge le protoplasma des mononucléaires (Pappenheim). Foa a bien vu que les plaquettes de Bizzozero ne se coloraient pas par la pyronine. Les résultats auxquels je suis arrivé sont complètement d'accord avec ceux de Foa.

J'ai appliqué aux globulins un certain nombre de procédés de coloration bactériologique (méthodes de Lœffler, de Kühne, violet de gentiane, thionine phéniquée). Je ne suis pas arrivé à les colorer d'une manière plus élective ni plus intense.

Avec les colorants nucléaires, vert de méthyle, hématéine, safranine, après les fixations les plus usuelles en histologie, je n'ai jamais pu voir de noyau dans les globulins : le globulin tout

entier n'a qu'une affinité très modérée pour ces différents réactifs.

En résumé, avec des colorants basiques ou acides, on peut arriver à teindre le globulin, mais toujours d'une manière extrêmement faible et atténuée. Je pense que dans l'interprétation de cette faible colorabilité il faut tenir compte aussi de l'extrême minceur du globulin étalé. On peut se demander si on a affaire à deux substances, l'une à affinité acide, l'autre à affinité basique, ou bien à une seule et même substance amphophile ; je crois la deuxième supposition plus vraisemblable.

Argutinsky a signalé le premier l'affinité des plaquettes pour le réactif de Giemsa. Il a vu au centre de ces éléments, au milieu d'une gangue colorée en bleu, soit une masse centrale colorée en violet, soit un amas de granulations violettes. Il considère d'ailleurs ce deuxième aspect comme correspondant à une forme d'altération par fragmentation du noyau.

J'estime que les deux aspects (voir plus bas) correspondent à une altération avancée. Mais si on n'envisage que le côté microchimique de la question, 'observation d'Argutinsky est absolument exacte ; les globulins contiennent une substance à affinité énergique pour le réactif de Giemsa et se colorant comme les formations nucléaires du parasite de la malaria. Les observations d'Argutinsky ont été confirmées par Foa, Sacerdotti, etc.

Chez tous les mammifères énumérés plus haut, après étalement et fixation à l'alcool, j'ai constaté ces mêmes granulations violettes, par le Giemsa ou les réactifs analogues (Leishman, Borrel).

Les globulins apparaissent sous forme d'amas de granulations violettes,le fond de l'élément étant à peu près incolore ; les noyaux leucocytaires sont d'un violet tendant davantage vers le bleu. Avec ce procédé de coloration, aussi bien qu'avec ceux que j'ai énumérés plus haut,on n'arrive pas à saisir la moindre forme de transition entre les globulins et les autres éléments du sang.

J'insiste sur le fait que cette réaction est absolument générale, et il me paraît intéressant de la rapprocher de la variabilité de coloration des granulations leucocytaires suivant les espèces animales.

Les granulations des globulins se différencient encore des granulations leucocytaires par un autre caractère, c'est leur très grande résistance.

La mise en évidence des granulations leucocytaires n'est possible qu'avec un nombre limité de fixateurs ; j'ai pu au contraire colorer les granulations des globulins avec tous les fixateurs que j'ai essayés : chaleur, alcool, sublimé, Zencker, Dominici, acide osmique, acide chromique, Flemming, Lindsay, Hermann, acide picrique, Bouin, formol.

On peut mettre encore en évidence cette affinité pour le Giemsa sur des globulins extrêmement altérés : les figures 1 à 6 de la planche en couleur représentent des globulins fixés, après avoir été conservés 24 heures en dehors de l'organisme : on y voit, sous des aspects morphologiques différents, cette substance colorée en violet ou violet rouge ; on peut la mettre en évidence dans des globulins conservés encore plus longtemps en dehors de l'organisme, ou altérés par les tissus, par des agents chimiques divers : on peut dire qu'elle ne disparaît qu'avec le globulin lui-même.

On sait, que non seulement les granulations du parasite de la malaria, mais encore les noyaux d'autres protistes (piroplasmes, trypanosomes), se colorent en rouge violet par la méthode de Giemsa, alors qu'ils ne se colorent pas par l'hématéine : l'hypothèse qui me paraît, à l'heure actuelle, la plus vraisemblable sur cette substance et qui est dictée par les considérations histologiques que je viens d'exposer, c'est d'établir un rapprochement, sinon une assimilation avec la chromatine des protozoaires.

§ 2. — Action des différents fixateurs et procédés de fixation.

La substance qui fixe le Giemsa d'une manière si élective, que j'appellerai par abréviation substance chromatophile, se présente avec des aspects morphologiques fort différents suivant la manière dont le sang a été recueilli et fixé.

Sur le sang recueilli au niveau d'une plaie cutanée, étalé, fixé à l'alcool, on a l'aspect suivant, bien connu de tous les hémato-

logistes qui ont travaillé avec la méthode de Giemsa : sur les bords de la lame, des masses énormes constituées par des granulations violettes ou rouge rubis sur un fond à peine teinté, et résultant parfois de la fusion de plusieurs centaines de globulins ; au point où la goutte a été déposée, des globulins plus ou moins isolés, d'aspect polymorphe, chacun d'eux étant constitué par un nombre assez variable de granulations violettes. Tantôt les granulations sont groupées au centre de l'élément, tantôt au contraire elles forment une couronne périphérique. Dans quelques cas, le nombre des granulations est très limité, et on n'observe que deux ou même une seule masse plus ou moins arrondie et simulant un noyau.

J'ai eu souvent recours à la méthode suivante : une goutte de plasma frais oxalaté ou citraté contenant des globulins normaux morphologiquement est déposée sur une lame, et étalée avec le dos d'une lame rodée. La fixation est obtenue soit par l'alcool absolu (une heure), soit par le mélange de Flemming fort : fixation 10 minutes, lavage 24 heures à l'eau courante. On colore une heure ou deux avec le Giemsa dilué à 1 0/0 ou 2 0/0. Lorsque la coloration paraît suffisante, on lave à l'eau courante pendant une minute, on traite la préparation 30 secondes par une solution de tannin à 5 0/0 ; on lave à grande eau et on sèche. Avec ce procédé, on obtient des globulins extrêmement polymorphes ; il y en a d'irréguliers avec des bords mal dessinés, quelquefois étoilés ; les uns ont une forme arrondie, les autres au contraire sont extrêmement allongés et filiformes. Dans ces éléments, la substance chromatophile apparaît sous forme de granulations isolées. Sur d'autres éléments de forme générale ovalaire ou arrondie, mais possédant une bordure assez nette (fig. 7 à 15 de la planche en couleurs), la substance chromatophile a un aspect tout à fait différent. Elle apparaît sous forme de masses irrégulières qui échappent à toute description. Ces masses sont moins nombreuses et plus volumineuses que les granulations isolées, et sur un grand nombre d'éléments, il est possible de constater qu'elles sont en continuité les unes avec les autres. On est amené

à se demander si les granulations observées à l'état isolé ne résultent pas de la fragmentation de ces masses.

L'emploi d'autres fixateurs (Dominici, Bouin, formol) donne des aspects analogues.

On obtient sensiblement les mêmes résultats, en fixant avant ou après dessiccation ; les résultats sont au contraire tout à fait différents lorsqu'on fixe le sang avant de l'*étaler*.

Les deux fixateurs qui, à l'heure actuelle, me paraissent donner les meilleurs résultats, sont le formol et l'acide osmique.

Avec l'acide osmique, je procède de la manière suivante : avec une pipette paraffinée, je prélève à la partie supérieure d'un tube de sang citraté ou oxalaté quelques gouttes de plasma contenant des globulins normaux que je laisse tomber dans 10 centimètres cubes d'acide osmique à 1 0/0, j'agite et centrifuge : les globulins fixés sédimentent très vite : au bout de 30 minutes, on peut prélever le culot qui est étalé sur des lames très propres ; après dessiccation à l'air, on lave 24 heures à l'eau courante et on procède ensuite pour la coloration comme il a été indiqué plus haut.

On peut varier le procédé en faisant arriver directement le sang (il reste bien entendu que la saignée est exécutée avec les précautions indiquées aux chapitres II et III) dans une solution d'acide osmique citratée à 2 0/0.

Avec le formol on procède exactement de même, on fait arriver 1 ou 2 centimètres cubes de sang dans la solution suivante tiédie :

Chlorure de sodium	1,00
Citrate de soude	1,50
Eau.	90,00

Au moment de l'emploi, ajouter 10 centimètres cubes formol pur du commerce.

En faisant deux centrifugations fractionnées, on débarrasse les éléments de la plus grande partie des globules rouges. Le culot est étalé sur lame et on lave une heure ou deux à l'eau courante.

Les globulins ainsi fixés par le formol et l'acide osmique ont

une forme arrondie ou ovalaire (fig. 16 à 18 de la planche en couleur). J'indiquerai, chapitre XV, l'interprétation que l'on peut donner de cet aspect morphologique. Ces globulins sont fixés : ils ne sont pas susceptibles de présenter des variations de forme sous l'influence du temps, des variations thermiques. Le formol ayant été proposé (1) pour cultiver les globulins, j'ai fait un certain nombre de recherches sur les globulins formolés, et j'ai constaté que la saponine, une des substances les plus globulinolytiques que je connaisse, est sans action aucune sur les globulins formolés, même à la dose considérable de 1 0/0, même en présence du sérum : je me suis servi pour ces recherches de globulins formolés, centrifugés dans l'eau distillée et émulsionnés dans l'eau salée.

Les globulins ainsi obtenus soit avec le formol, soit avec l'acide osmique, sont colorés pendant une heure ou deux dans le Giemsa dilué à 1 0/0 ou à 2 0/0. On lave à l'eau, on traite 30 secondes par le tannin, on lave de nouveau et on sèche. On a les aspects représentés dans les figures 16 et 17 de la planche en couleur. La majorité des éléments sont ovalaires ou arrondis, ils ont une structure absolument homogène, on n'observe plus la différenciation en deux substances ; la bordure est extrêmement nette, comme taillée à l'emporte-pièce. La coloration obtenue est voisine de celle de la substance chromatophile, mais moins intense : il semble que cette substance, répartie sur une plus grande surface, soit vue sous une moindre épaisseur et par conséquent avec une teinte plus pâle (2).

On peut se demander si ce nouvel aspect du globulin n'est pas artificiel, si le séjour prolongé quelquefois jusqu'à une heure,

(1) J. Courmont et Ch. André, Culture des globulins « in vitro ». *C. R. Société biologie*, 1908.

Les globulins morts sont susceptibles d'agglutination (cf. ch. VI), il est fort probable que les figures, très exactes d'ailleurs, indiquées par ces auteurs, correspondent à des figures d'agglutination.

(2) J'ai obtenu exactement les mêmes résultats avec du plasma d'âne pur, sans citrate : avec le citrate, les préparations sont beaucoup plus belles et on peut arriver à éviter tout précipité.

dans les fixateurs, en mordançant les éléments n'empêche pas l'élection du Giemsa au niveau de la substance chromatophile. Cette interprétation est tout à fait inexacte. Prenons un même échantillon de sang : une partie est fixée après étalement au formol et à l'acide osmique ; une autre partie est fixée par les mêmes réactifs *sans étalement* ; le séjour dans les fixateurs étant de la même durée pour les deux séries ainsi que le séjour dans la solution colorante, les résultats sont absolument les mêmes ; sur les lames non étalées, aspect homogène ; sur les lames étalées, masses granuleuses. Je considère donc le deuxième aspect comme correspondant à une forme d'altération produite par l'étalement. Cette interprétation est corroborée par le fait suivant : si au lieu de projeter dans l'acide osmique du plasma frais, on se sert d'un plasma conservé depuis longtemps en dehors de l'organisme et dont les globulins sont altérés morphologiquement, on obtient bien l'élection du Giemsa au niveau de la substance granuleuse. Il apparaît donc comme très vraisemblable que l'aspect granuleux correspond à une altération spontanée ou artificielle. J'ajoute encore que sur les globulins frais, fixés sans étalement, on a toujours l'aspect homogène, que l'on fasse des colorations progressives ou régressives.

Les figures 1, 2, 3 et 6 de la planche en couleur montrent la substance granuleuse sous forme de masses arrondies à aspect nucléaire : la ressemblance avec un noyau est parfaitement nette dans la figure 3. Ces apparences nucléaires se voient sur des globulins extrêmement altérés : on ne doit pas considérer la présence de granulations isolées comme résultant de la fragmentation d'un noyau (Argutinsky). Je crois qu'à l'heure actuelle on doit, au contraire, interpréter de la manière suivante la structure du globulin. A l'état normal, la substance chromatophile est à l'état diffus, intimement mélangée, sinon combinée avec la substance amphophile signalée plus haut (fig. 16 et 17). Un premier degré d'altération est celui que l'on trouve figuré dans les figures 7 à 15 ; les deux substances sont nettement séparées l'une de l'autre, mais la substance chromatophile est plus ou moins continue. Enfin dans un dernier stade (fig. 1 à 6), la substance chromato-

phile est à l'état isolé sous forme de granulations ou de masses pseudo-nucléaires,

Les figures 7,11, 12,15 (sang étalé) montrent des vacuoles sous forme de plages incolores au centre des globulins, cet aspect est tout à fait rare dans les globulins fixés sans étalement (fig. 18),et je ne crois pas qu'on puisse établir une relation entre ces vacuoles et les vacuoles colorables par le rouge neutre. Elles me paraissent plutôt correspondre à une altération artificielle.

Un certain nombre de travaux ont attiré l'attention sur la possibilité de confondre les globulins avec des protozoaires parasites (trypanosomes, piroplasmes); la confusion a été certainement faite plus d'une fois par les auteurs qui envisagent le sang comme composé de deux éléments et qui considèrent comme un parasite tout ce qui n'est ni un globule rouge ni un globule blanc. Mais pour quiconque connaît le globulin, aussi bien dans ses formes normales que dans ses formes d'altérations, la confusion me paraît impossible à faire. Les piroplasmes par leur taille évidemment se rapprochent du globulin, mais leur substance nucléaire possède un aspect tout à fait différent, et leur protoplasma fixe le bleu du Giemsa, avec beaucoup plus d'énergie.

Les constatations que je viens d'exposer montrent que parmi les éléments de l'organisme, le globulin a une structure tout à fait spéciale, puisque l'on ne peut pas y reconnaître de noyau au sens habituel du mot. Ses réactions colorantes sont également tout à fait spéciales, et il est curieux d'y constater une substance chromatophile ayant les réactions colorantes de la chromatine des protozoaires, mais profondément différentes de la chromatine du noyau des globules rouges nucléés ou des leucocytes,et que l'on ne trouve pas davantage dans le protoplasma de ces éléments (1).

(1) Je reprendrai, chapitre XV, ces données histologiques qui constituent la base de toute discussion sur les théories qui rattachent le globulin aux autres éléments du sang.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

1 - 6. Sang de chien oxalaté à 2 0/00, conservé 24 heures en dehors de l'organisme, fixé dans l'acide osmique 1 0/0, *sans étalement*. Coloration Giemsa à 1 0/0.

7-9. Sang de chien oxalaté à 2 0/00. Etalement, dessiccation, fixation à l'alcool et coloration au Borrel.

10-15. Sang de chien citraté à 1 0/0. Etalement, dessiccation, fixation au Flemming. Giemsa.

10-18. Sang de chien citraté à 1 0/0. Fixation à l'acide osmique *sans étalement*. Giemsa.

19. Sang de chien citraté à 1 0/0, rouge neutre 1 /25.000, 1 heure, à 38°.

de granulations ou de masses

sang étalé) montrent des vacuoles sous
au centre des globulins, cet aspect est
globulins fixés sans étalement (fig. 18), et
sse établir une relation entre ces vacuo-
ules par le rouge neutre. Elles me pa-
raître à une altération artificielle.

de travaux ont attiré l'attention sur la pos-

EXPLICATION DE LA PLANCHE.

mes); la confusion a été certainement faite

auteurs qui [illegible] le sang comme com-
et qui considère comme un parasite tout
ule rouge [illegible] globule blanc. Mais pour

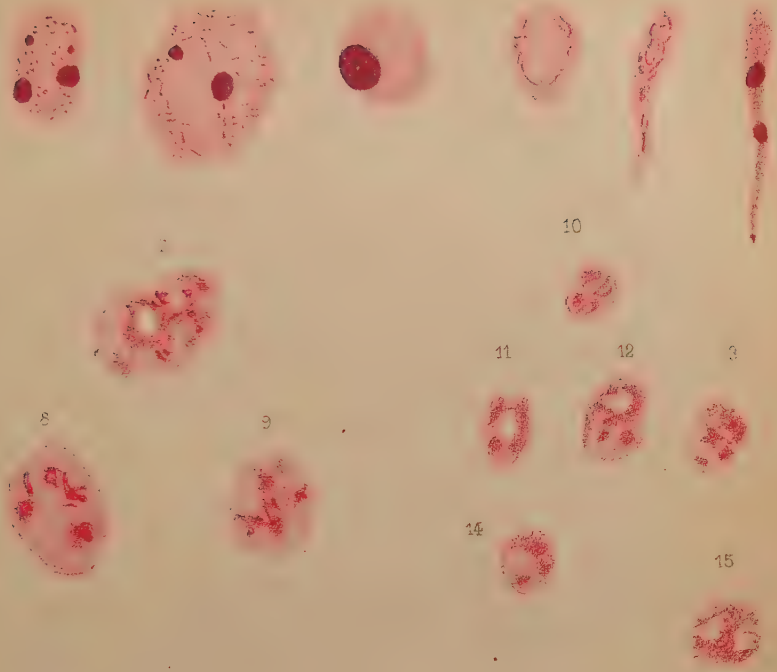
d'altération [illegible] confusion me paraît
[illegible] facilement se
[illegible] 21 [illegible]
[illegible] 1 0/0 [illegible]
[illegible] à 1 0/0.

7-9 Sang de même [illegible] à 2 000. Lentement, dessiccation, fixation à
l'alcool et coloration au Borrel.

10-15 Sang [illegible] Lentement, dessiccation, fixation au
[illegible] Giemsa.

10-15 Sang [illegible] citraté à 1 0/0. Fixation à [illegible] sublimé
acétique. Giemsa.

15 Sang de bœuf citraté à 1 0/0, rouge neutre à 1 25 000, 1 heure, à 38°


10
11
12
13
8
9
14
15
16
17
18
19

CHAPITRE IX

LE PHÉNOMÈNE DE LA DISPARITION TEMPORAIRE DU GLOBULIN CHEZ LE CHIEN

Les premières recherches que j'ai faites avec M. Achard sur les réactions des globulins dans l'organisme vivant ont été effectuées avec des substances anti-coagulantes (peptone, sérum d'anguille, extrait de muscles d'écrevisse) ; elles avaient pour but d'étudier les rapports des globulins et de la coagulation, rapports qui avaient été et sont encore admis par nombre d'auteurs ; elles nous ont montré qu'après injection intra-veineuse de peptone chez le chien (1) les globulins disparaissaient du plasma.

La plus grande partie des expériences que je vais rapporter dans ce chapitre sont des expériences exécutées il y a plus d'un an, à une époque où je ne faisais pas de numération : c'est pourquoi je tiens à expliquer les appréciations quantitatives que je vais employer.

Quand on examine avec la technique que j'ai exposée un plasma pur, ou dilué à 1/10, les globulins apparaissent aussi nombreux qu'ils sont figurés (fig. 2) ; on en rencontre plusieurs couches successives avant d'arriver sur les globules rouges ; c'est l'aspect que j'ai toujours vu au cours de plusieurs centaines de saignées, chez des animaux neufs, déjà saignés, ou soumis aux conditions expérimentales que je vais rapporter dans la première partie de cette étude ; j'ajoute que cet aspect est très stable et n'est pas modifié par la perte de sang, les variations de pression artérielle, l'asphyxie, l'anesthésie (2).

(1) Les expériences que je rapporte dans les trois premières parties de ce chapitre ne concernent que le chien.

(2) On trouvera au chapitre « Numération » (chap. XII) un certain nombre

Si on examine avec la même technique une goutte de plasma de chien, après injection de peptone, les couches superficielles de globulins sont absentes : en mettant au point, on arrive directement sur la couche des globules rouges. C'est ce que j'entends par disparition des globulins ; en réalité, la disparition n'est pas tout à fait complète et on peut trouver, en déplaçant la préparation, un globulin de temps en temps. J'ai fait depuis quelques évaluations numériques ; le rapport des globulins aux globules rouges passe de 10 ou 15, à 300, 400 et plus, ce qui représente moins de 10.000 globulins par millimètre cube au lieu de 400.000.

Dans d'autres cas, la disparition est moins marquée, mais on peut facilement compter les globulins contenus dans un champ microscopique, ce qui est absolument impossible à l'état normal.

§ 1. — Stabilité des globulins dans quelques conditions expérimentales.

L'anesthésie générale par l'éther, le chloroforme, l'hydrate d'amylène, le nitrite d'amyle ne s'accompagne pas de modifications appréciables des globulins.

281. — *Chien* ayant subi deux saignées, anesthésie par l'éther.
Sang de la carotide (citraté 1 0/0), globulins normaux.

255. — *Chien* de 20 kilos, 4 saignées antérieures.
Inhalation de 30 grammes de chloroforme.
L'animal est saigné à blanc par la carotide. Des tubes oxalatés à 2 0/00, citratés à 1 0/0 sont examinés au bout de 30 minutes : les globulins sont normaux.

328. — *Chien* de 20 kilos déjà saigné.
Hydrate d'amylène en injection sous-cutanée :

A 3 h. 25	4	centimètres cubes.
3 h. 35	4	—
3 h. 40	4	—
3 h. 45	4	—

de documents, concernant des expériences plus récentes et montrant combien sont minimes les variations numériques des globulins dans les conditions que je viens d'énumérer.

Sommeil profond, saignée à 4 h. 50.
Sang citraté à 1 0/0. Globulins absolument normaux.

169. — *Chien* neuf, 15 kilos.
Anesthésie de 3 h. 50 à 4 h. 2 avec 10 grammes de nitrite d'amyle en inhalation.
De 3 h. 53 à 4 h. 2, on recueille 6 échantillons.
Citrate à 1 0/0 : globulins en nombre normal, il n'y a eu qu'une faible baisse de la pression artérielle.
Coagulation et rétraction normales.

Il en est de même de l'anesthésie par injection intra-péritonéale de chloral-morphine par la méthode de Ch. Richet.

J'ai étudié un certain nombre d'alcaloïdes en injection intra-veineuse.

J'ai fait une injection de chlorhydrate de morphine intra-veineuse de 15 milligr. par kilo à un chien ; quatre minutes après l'injection, j'ai saigné l'animal qui était dans un état de narcose profonde : les globulins étaient normaux qualitativement et quantitativement. A un autre chien j'ai fait une injections intra-veineuse de chlorhydrate de cocaïne (15 milligr. par kilo) ; l'animal a succombé en moins de une minute avec des convulsions ; je l'ai saigné alors que la respiration était arrêtée ; la pression artérielle était presque réduite à 0, et le sang, en l'absence de toute thrombose, ne s'écoulait du trocart qu'en bavant ; les globulins étaient normaux numériquement, et malgré les mauvaises conditions de la saignée les 3/4 d'entre eux étaient allongés ; il n'y avait pas la moindre agglutination. Cette expérience et la suivante montrent que la diminution de la pression artérielle ne suffit pas à entraîner la disparition des globulins.

Doyon a montré que l'atropine injectée dans un rameau de la veine porte produisait un retard considérable de la coagulation. Dans une veinule intestinale chez un chien de 14 kilos, j'ai injecté 14 centimètres cubes d'une solution de sulfate neutre d'atropine à 0 gr. 02 par centimètre cube. Dans les huit minutes qui ont suivi l'injection, à un moment où la pression artérielle était presque réduite à 0, j'ai recueilli cinq échantillons de sang ; j'en ai recueilli deux autres plus tard alors que la pression artérielle

était revenue à la normale ; dans tous ces échantillons, le taux des globulins était normal.

Le nitrate d'aconitine ne semble pas influencer davantage les globulins.

337. — *Chien* neuf, 14 kilos.

A 4 heures, injection intra-veineuse de 21 centimètres cubes d'une solution de chlorhydrate de morphine à 1 0/0, soit 15 milligrammes par kilo. Sommeil anesthésique. Saignée à 4 h. 50.

Sang oxalaté 2 0/00. Globulins absolument normaux.

329. — *Chien* neuf, 14 kilos.

Injection intra-veineuse de 21 centimètres cubes d'une solution de cocaïne 1 0/0, soit 15 milligrammes par kilog.

Mort en 1 minute, convulsions. Saignée, la respiration étant arrêtée, la pression artérielle très basse ; le sang sort en bavant du trocart. Malgré les très mauvaises conditions de la prise de sang, les globulins (citrate 1 0/0) sont en nombre normal, les 3/4 allongés ; pas la moindre agglutination.

170 *bis.* — *Chien*, 15 kilos.

A 4 h. 12, injection de 14 centimètres cubes de sulfate neutre d'atropine à 0 gr. 02 par cmc. dans un rameau de la veine porte.

De 4 h. 12 à 4 h. 20 la pression artérielle étant presque réduite à 0, on recueille 5 tubes de sang. L'échantillon 6 est recueilli à 4 h. 40, la pression artérielle étant remontée. Le n° 7 est recueilli à 5 h. 50 au moment où l'animal commence à se réveiller.

Dans ces 7 échantillons (citrate à 1 0/0), le nombre des globulins est normal.

1, 2 et 3 ont coagulé en 1 heure (coagulation plasmatique).

470. — *Chien*, 6 kilos.

Animal en mauvais état : plusieurs saignées antérieures. Tous les examens rapportés dans l'expérience ont été faits sur du sang pris dans la même artère, par conséquent dans de mauvaises conditions.

Nitrate d'aconitine. 1 milligramme pour 10 centimètres cubes.

4 h. 23, 5 centimètres cubes sous la peau.
— 5 — dans la veine.
4 h. 30, 5 — —
4 h. 35, 10 — —
L'animal vomit.
Saignée 4 h. 30 : Citrate. Globulins normaux.
— 4 h. 42 — Globulins normaux numériquement, mais arrondis.
Mort à 4 h. 45.

La quinine en injection sous-cutanée (0 gr. 11 par kilo), l'antipyrine en injection intra-veineuse (0 gr. 50 par kilo), n'entraînent pas de modifications appréciables des globulins.

207. — *Chien* de 17 kilos ayant subi 2 saignées les jours précédents.

A 4 heures reçoit sous la peau 2 grammes de chlorhydrate neutre de quinine. Il présente les symptômes ordinaires (titubation, épilepsie, etc.) de l'intoxication quinique.

A 5 heures il est saigné : pression artérielle faible ; sang citraté 1 0/0 ; globulins normaux.

328. — *Chien* neuf, 17 kilos.

Solution : Antipyrine . . . . . 10 grammes.
Eau salée 6 0/0. . . . . 40 —

1 centimètre cube = 0 gr. 25 antipyrine.

A 3 h. 8 injection intra-veineuse de 34 centimètres cubes, soit 0 gr. 50 par kilo, l'animal vomit, a des convulsions.

Saignée à 3 h. 12.

Coagulation en 7 minutes : rétraction normale.

Sang citraté 1 0/0 : globulins normaux comme nombre et qualité.

L'injection intra-veineuse d'une grande quantité d'eau distillée n'amène pas la disparition des globulins.

667. — *Chien* neuf, 18 kil. 500.

A 3 h. 5 injection intra-péritonéale de 45 centimètres cubes chloralmorphine.

Saignée à 3 h. 30 : globulins normaux.

A 3 h. 55 injection rapide de 1.500 centimètres cubes eau distillée à 38°.

Saignée A, 4 heures.

— B, 5 h. 30.

Les plasmas citratés A et B sont hémolysés et la vessie contenait de l'urine rouge porto.

Les globulins étaient en nombre sensiblement normal.

Δ du sérum A, — 0°48.

Des intoxications plus lentes (phosphore, toluylendiamine, nitrate d'urane, donnent les mêmes résultats.

188. — *Chien* neuf, 20 kilos.

Le 17 juin 1908 injection intra-veineuse de 20 centimètres cubes et sous-cutanée de 10 centimètres cubes d'une solution de toluylendiamine à 5 0/0.

Le 18, 24 heures après l'injection, animal très faible, conjonctives jaunes,

urines ictériques contenant de l'albumine. Saignée de la fémorale. Citrate à 1 0/0.

Les globulins sont normaux et ne paraissent pas diminuer de nombre.

Le plasma est jaune serin.

203. — Huile phosphorée à 2 0/00.

Chien neuf de 20 kilos.

Le 30 juin 1908, 10 centimètres cubes d'huile sous la peau.

Le 1er juillet 1908, 10 — — —

Le 2 juillet 1908, 15 — — —

Mort dans la nuit du 2 au 3.

Saignée du 2 : citraté à 1 0/0 : globulins non modifiés.

361. — *Chien* neuf, 12 kilos, non albuminurique.

Le 12 décembre, 5 centimètres cubes nitrate d'urane à 1 0/0 sous la peau.

Le 14. — Urines albumineuses.

Saignée de 100 grammes.

Citrate et oxalate : globulins normaux, leucocytes intacts.

Dans le verre, coagulation en 30 minutes ; rétraction faible au bout de 24 heures.

Le 15. — 25 centimètres cubes d'urine très albumineuse dans la vessie.

Sang oxalaté : globulins normaux.

Le 17 et le 19. — 2 centimètres cubes urane sous la peau, mort le 21.

Les expériences que je viens de rapporter ont simplement pour but de montrer que le nombre des globulins est stable et que lorsqu'on constate la disparition de ces derniers, il ne s'agit pas d'un phénomène fortuit dû à une faute de technique, mais d'un phénomène réel dont il faudra expliquer le mécanisme.

Toutes les expériences exposées dans ce chapitre ont été exécutées sur des chiens, et les conclusions que j'en tire ne s'appliquent qu'à cette espèce animale.

§ 2. — Disparition des globulins après injection de peptone.

Schmidt-Muhleim (1) et Fano (2) ont fait connaître la propriété

(1) A. Schmidt-Muhleim, Beitrage zur Kenntniss des Peptons und seiner physiologischen Bedeutung. *Arch. fur Physiologie*, 1880, p. 33.

(2) Fano, Das Vorhalten des Peptons und Tryptons gegen Lymphe und Blut. *Ibid.*, 1881, p. 277.

qu'avait la peptone, en injection intra-veineuse, d'amener chez le chien l'incoagulabilité du sang. L'injection de peptone, qui doit être brusque, produit en même temps des phénomènes graves : coma, baisse de la pression artérielle, quelquefois vomissements. Il y a une leucopénie considérable : le chiffre des leucocytes peut tomber aux environs de 1.000 en une minute.

Sur l'état des globulins dans le sang de peptone, on trouve dans la littérature des résultats contradictoires. Bizzozero, Fano, Salvioli, Spangaro admettent que les plaquettes sont bien conservées dans le sang de peptone, tandis que, pour Pratt, il y aurait une baisse numérique immédiate très marquée.

Faisons à un chien une injection intra-veineuse de 25 centigrammes par kilo de peptone (peptone de Witte) ; pratiquons-lui une saignée 2 minutes après ; dans le plasma centrifugé, examiné en goutte pendante, nous serons fort étonnés de ne pas trouver de globulins (1). En mettant au point sur la préparation, on arrive directement sur la couche des globules rouges sans avoir rencontré un seul globulin, les leucocytes sont extrêmement rares. Bien que nous ayons affaire à un sang incoagulable, citratons-le ou oxalatons-le immédiatement à la sortie du vaisseau, pour éviter toute cause d'erreur due à l'action des tissus : nous ne trouverons pas davantage de globulins, ils ne sont pas non plus dans le culot des globules rouges.

Il ne s'agit pas d'une faute de technique : la disparition des globulins ne s'observe qu'avec un nombre de substances très limité, ayant un certain nombre de caractères communs.

La disparition des globulins est extrêmement rapide, elle se produit en une minute. Dans quelques cas, avec les fortes doses on peut la dire vraiment complète : il faut parcourir toute une préparation pour trouver 1 ou 2 globulins. Avec des doses plus faibles on en trouve encore 2, 3 par champ. J'ai examiné le sang de la veine cave inférieure avec les mêmes résultats.

(1) Les plasmas déglobulinisés *in vivo* sont d'une limpidité tout à fait spéciale et ont absolument le même aspect que les plasmas déglobulinisés *in vitro*. Le diagnostic de la disparition des globulins peut se faire à l'œil nu.

152. — *Chien* neuf, 10 kilos.

Solution de peptone à 25 0/0 dans l'eau salée, injection intra-veineuse de 8 centimètres cubes, soit 0 gr. 10 par kilo.

Saignée A après 1 minute.

— B — 10 minutes.

Citrate 1 0/0.

A. Globulins très diminués de nombre, amas volumineux englobant des leucocytes.

B. Résultat analogue.

Les leucocytes qui persistent sont absolument intacts et vivants, mobiles entre lame et lamelle à 38°. Sang incoagulé après 24 heures.

146. — *Chien* neuf, 14 kilos.

Solution de peptone à 25 0/0 dans l'eau salée.

Injection rapide de 17 centimètres cubes dans la veine axillaire à 3 heures, soit 0 gr. 30 par kilo. Saignée de 3 h. à 3 h. 2. Mort à 3 h. 5. Sang incoagulable.

Citrate à 1 0/0.

Oxalate à 2 0/00.

Le plasma ne contient pas de globulins. Leucopénie.

170. — *Chien* neuf, 18 kilos.

Injection intra-veineuse de 20 centimètres cubes de peptone à 20 0/0, soit 0 gr. 22 par kilo.

Saignée au bout de 1 minute 30 (pression basse).

Citrate 1 0/0 : pas de globulins, leucopénie.

Comment interpréter cette disparition des globulins ? L'hypothèse la plus simple, qui se présente la première à l'esprit, c'est celle de la destruction des globulins par la peptone. Les faits constatés *in vitro* ne lui sont pas favorables ; en effet, la peptone est bien une substance nocive pour les globulins, mais lorsqu'on l'ajoute même à des doses très élevées et à du plasma pur, la destruction des globulins demande un certain temps et n'a pas la rapidité, presque l'instanéité de leur disparition *in vivo*. De plus, les globulins s'altèrent et se détruisent, mais ils laissent des résidus, des débris qui manquent totalement dans le plasma de peptone ; c'est une remarque qui me paraît avoir son importance, mais qui ne suffirait pas seule à faire rejeter l'hypothèse de la destruction : nous savons en effet que le sang se débarasse par un mécanisme mal élucidé des éléments altérés ou morts avec

une rapidité très grande et que l'on ne trouve pour ainsi dire jamais de leucocytes morts dans le sang circulant.

L'hypothèse de la destruction des globulins est rendue très difficile par le fait suivant : c'est que la disparition de ces éléments n'est que temporaire ; au bout de 20 minutes, 30 minutes les globulins reparaissent ; en 1 heure ou moins ils sont revenus à la normale. L'hypothèse de la régénération de ces éléments en un temps aussi rapide paraît peu vraisemblable : il y a lieu de rechercher si leur disparition n'est pas le fait d'une répartition différente dans l'organisme.

Injectons encore à un chien la même dose de peptone, faisons lui une saignée pour nous assurer que les globulins ont bien disparu de la circulation. Sacrifions l'animal immédiatement après la saignée, enlevons le foie et faisons passer un courant d'eau salée citratée à 1 0/0 par la veine porte ; recueillons le liquide de lavage et examinons-le comme un sang ordinaire. Alors que le plasma du sang pur non dilué peut ne pas contenir trace de globulins, le liquide de lavage du foie en contient des quantités : dans une expérience, le liquide de lavage, qui représentait une dilution du sang à 1/5, contenait plus de globulins que le sang d'un animal normal ; les globulins n'étaient donc pas détruits, ils étaient simplement retenus dans le foie (1).

168. — *Chien* neuf, 14 kilos.

Solution de peptone à 20 0/0.

Injection intra-veineuse à 3 h. 18 de 10 centimètres cubes, soit 0 gr. 14 par kilo.

Saignée à 3 h. 30, on sacrifie l'animal.

Sang artériel citraté à 1 0/0 : pas de globulins, leucopénie intense.

On fait passer un courant d'eau salée citratée par la veine porte et on recueille 180 centimètres cubes de liquide à l'embouchure des veines sus-hépatiques.

10 centimètres cubes de ce liquide donnent, après centrifugation, un culot de 1 centimètre cube de globules et 9 centimètres cubes de plasma : il représente donc une dilution du sang à 1 pour 5. Ce plasma contient plus de globulins qu'un plasma non dilué.

(1) Il est fort possible que le foie ne soit pas le seul organe capable de retenir les globulins et qu'on pourrait en extraire par lavage d'autres réseaux capillaires.

Les effets d'une seconde réinjection pratiquée dans les 24 heures sont les mêmes ; il n'y a donc pas, dans cette limite de temps, immunité.

279. — *Chien* neuf, 13 kilos.

A 4 h. 25, injection intra-veineuse 25 centimètres cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 0/0 dans l'eau salée, soit 0 gr. 19 de peptone par kilo.

1° Saignée A à 4 h. 27 (pression artérielle très basse).

2° — B à 5 h. (pression normale).

Le sang A n'était pas coagulé au bout de 2 heures ; le sang B a coagulé en 30 minutes.

Sang A (citraté 1 0/0) ne contient pas de globulins, leucopénie.

— B (citraté 1 0/0) : globulins normaux comme nombre et qualité.

Le lendemain, à 3 h. 10, le même chien reçoit la même quantité de la même solution de peptone.

Saignée A . . . . . 3 h. 14 (pression faible).

— B. . . . . 4 h. (pression forte).

Le sang A a coagulé en 2 h 1/2.

— A citraté à 1 0/0 contient de 1 à 2 globulins par champ d'immersion.

Le sang B contient des globulins normaux en quantité normale.

161. — Solution de peptone à 10 0/0 dans l'eau salée. Injection intra-veineuse de 18 centimètres cubes à un *chien* neuf de 14 kilo, soit 0 gr. 128 par kilo.

L'animal est saigné au bout de 3 minutes : leucopénie intense, pas de globulins (citrate 1 0/0).

Sang non coagulé au bout de 24 heures.

Après 24 heures, l'animal est saigné de nouveau : le sang citraté à 1 0/0 se montre normal sous le rapport des leucocytes et des globulins.

On fait à l'animal une nouvelle injection de peptone, 40 centimètres cubes de la solution de la veille.

Saignée A. . . . . 2 heures.

— B. . . . . 2 h. 30.

A n'est pas coagulé dans le verre au bout de 24 heures ; citraté à 1 0/0, ne contient pas de globulins.

B n'est pas coagulé au bout de 24 heures ; citraté à 1 0/0, globulins normaux.

164. — *Chienne* neuve, 19 kil. Solution de peptone 15 0/0 dans l'eau salée.

A 3 h. 40, injection intra-veineuse de 30 centimètres cubes, soit 0 gr. 23 par kilo.

Saignée A. . . . . 3 h. 42.

— B. . . . . 4 heures.

A 5 heures, nouvelle injection de 30 centimètres cubes.
Saignée à C 5 h. 2.
A non coagulé en 24 heures.
Citraté à 1 0/0. Pas un seul globulin isolé, quelques très rares petits amas; leucopénie.
B coagulé au bout de 24 heures.
Citraté à 1 0/0. Les leucocytes et les globulins ont reparu.
C citraté à 1 0/0. Pas de globulins.

L'action de la peptone reste la même, quel que soit le nombre des globulins, comme le montre l'expérience suivante sur un chien trypanosomié avec diminution numérique des globulins.

Infection à trypan. Pecaudi. *Chien* n° 18 ; 16 kil. 6e jour de la maladie.

$$R = 3.830.000.$$

$$\frac{Gl}{R} = 63,27.$$

$$Gl = 60.530.$$

Trypan. = 140.000.

Injection intra-veineuse de 40 centimètres cubes d'une solution de peptone à 10 0/0. Phénomènes habituels de l'intoxication peptonique. Saignée immédiate.

Sang citraté à 1 0/0. Les globulins ont totalement disparu : les trypanosomes persistent, très mobiles.

J'ai observé également la disparition des globulins après injection de peptone au cours de l'anesthésie au chloral-morphine ou au chloroforme.

En résumé, l'injection de peptone produit une disparition, mais une disparition temporaire des globulins. Pendant la phase de disparition, les globulins sont accumulés dans le foie. La leucopénie se produit en même temps que la disparition des globulins et les deux éléments augmentent ensuite simultanément de nombre, avec cette différence, que la disparition est un phénomène brusque, tandis que le retour est progressif.

Tels sont les faits : est-il possible d'en expliquer le mécanisme d'une manière satisfaisante ?

Je ne pense pas que la baisse de la pression artérielle explique la rétention des globulins dans les réseaux capillaires du foie. Dans des expériences rapportées au début de ce chapitre, nous avons vu au cours de l'intoxication par la cocaïne et l'atropine le taux des globulins rester normal, bien que la pression artérielle

fût presque réduite à 0. Chez un chien anémié par une hémorragie péritonéale, qui était dans le collapsus et qui a succombé à une saignée artérielle d'à peu près 100 grammes, les hasards de l'expérience ont voulu que je recueille séparément le sang des différents temps de la saignée, et en particulier le sang des tout à fait dernières ondées artérielles ; bien que la pression fût presque nulle, les globulins n'avaient pas disparu. Je considère donc l'abaissement de la pression artérielle comme absolument insuffisant pour entraîner la disparition des globulins. Nolf (1) considère aussi que la leucopénie propeptonique n'est pas conditionnée par la pression artérielle.

L'action de la peptone *in vitro* permet une autre hypothèse : avant de détruire les globulins, elle les agglutine : on peut supposer que par suite de sa destruction dans l'organisme, son action s'arrête à l'agglutination, et que les amas de globulins agglutinés sont simplement retenus temporairement dans les réseaux capillaires.

Les observations sur le vivant d'Eberth et Schimmelbusch plaident en faveur de la vraisemblance de cette hypothèse. Eberth et Schimmelbusch ont constaté la formation d'agglomérats de globulins dans les vaisseaux de l'animal vivant à la suite de traumatisme ou de compression vasculaire ; ces agglomérats retiennent des leucocytes ; ils se cantonnent dans la zone périphérique du vaisseau et ne suspendent nullement le cours du sang. Les figures du travail d'Eberth et Schimmelbusch (2) sont absolument démonstratives à cet égard.

Le fait suivant est également en faveur de la même hypothèse ; c'est la constatation dans le plasma de peptone au moment où les globulins disparaissent, de globulins agglutinés ; j'ai fait la même constatation avec les substances qui partagent avec la peptone la propriété de faire disparaître temporairement les globulins. J'ai d'abord pensé qu'il s'agissait d'une agglutination accidentelle ; les précautions que j'ai prises, le fait que sur plusieurs

(1) P. Nolf, De la nature de l'hypoleucocytose propeptonique, *Arch. int. physiologie*, I, 1904.

(2) Eberth et Schimmelbusch, *Die Thrombose*, Stuttgart, 1888.

centaines de saignées je n'aie observé cette agglutination que dans les cas spéciaux que j'étudie actuellement, me permettent de supposer qu'il s'agit d'une agglutination *in vivo*.

Cette explication est rendue des plus vraisemblables par le fait suivant : 1 centimètre cube de plasma de peptone (au moment de la phase de disparition) a la propriété d'agglutiner les globulins de 9 centimètres cubes de sang de chien neuf oxalaté à 2 0/00. Dans ces conditions, le sérum de chien neuf est tout à fait inactif.

Je crois donc que les globulins dans le sang de peptone ont disparu par agglutination : cette explication permet aussi d'interpréter la leucopénie propeptonique.

Nous avons vu qu'*in vitro* ces amas de globulins pouvaient retenir des leucocytes ; que la précipitation des globulins d'un plasma *in vitro* était également accompagnée de la précipitation des leucocytes ; on sait que les leucocytes après injection de peptone se trouvent en grande abondance dans le foie (Bruce) et que c'est précisément dans cet organe que j'ai pu mettre en évidence la rétention des globulins. Rappelons les constatations d'Eberth et Schimmelbusch sur l'accumulation des leucocytes au niveau des amas de globulins chez l'animal vivant, et il apparaîtra comme fort vraisemblable que les leucocytes temporairement disparus après injection de peptone, sont retenus dans les réseaux capillaires par, ou avec, les amas de globulins. Cette explication est renforcée par le fait suivant : leucocytes et globulins disparaissent et reparaissent en même temps. Un même mécanisme doit évidemment expliquer les deux faits : lorsque par suite de l'élimination ou de la destruction de la peptone les amas se désagrègent, globulins et leucocytes reparaissent en même temps dans la circulation.

§ 3. — Disparition des globulins après injection de substances les agglutinant « in vitro ».

Si l'explication que je viens de proposer est exacte, on doit pouvoir reproduire la disparition des globulins avec les substances douées de propriétés agglutinantes *in vitro*.

Il en est ainsi avec l'extrait de muscles d'écrevisse (1).

191. — 38 grammes de muscles d'écrevisse, traités huit jours par l'alcool absolu, desséchés à l'étuve à 50° sont broyés et repris par 200 centimètres cubes d'eau bouillante.

Chien neuf, 15 kilos.

Injection intra-veineuse de 30 centimètres cubes à 2 h. 2.

Saignée A. . . . . 2 h. 10.

— B. . . . . 2 h. 15.

Au moment des deux saignées, pression artérielle faible.

Sang A, coagule en 18 minutes, rétraction normale.

Citrate 1 0/0, globulins extrêmement rares, quelques petits amas.

Sang B, coagule en 10 minutes, rétraction normale.

Citrate 1 0/0, globulins normaux.

200. — 8 grammes de muscles d'écrevisse conservés depuis 8 jours dans l'alcool absolu, sont desséchés 2 heures à 56° ; repris par l'eau bouillante (40 cmc.). Après 20 heures de macération, on injecte les 40 centimètres cubes dans la veine d'un chien neuf de 19 kilos à 3 h. 25.

Saignée A à 3 h. 35.

Citrate à 1 0/0 : globulins diminués de moitié, un grand nombre de petits amas.

Saignées B et C à 4 h. 5 et 4 h. 35.

Globulins normaux.

Les trois échantillons de sang coagulent en 10 minutes.

L'expérience suivante avec le sérum d'anguille montre également la disparition des globulins, moins rapide toutefois qu'avec la peptone.

166. — Sérum d'anguille frais.

Chien neuf, 14 kil. 500.

A 3 h. 12, injection intra-veineuse de 0 cmc. 8 dilué dans 5 centimètres cubes d'eau salée.

Saignée n° 1 : à 3 h. 15.

— n° 2.

— n° 3 : 3 tubes de 3 h. 18 à 3 h. 25.

— n° 4.

— n° 5 : à 4 h. 5.

— n° 6 : à 5 h. 5.

(1) Delezenne, Action du sérum d'anguille et des extraits d'organes sur la coagulation. *Archives de physiologie*, 1897.

L'échantillon 1 coagule en 30 minutes, 4 en 50 minutes, 6 en 15 minutes.

Le n° 1 a rétracté très légèrement, le 4 n'a pas rétracté, ainsi que le 5 et le 6.

Sang citraté à 1 0/0.

N° 1 : globulins de nombre à peu près normal, leucocytes normaux.

N^{os} 2, 3 et 4 : pas de globulins, leucopénie intense.

N° 5 et 6 : leucocytes et globulins en nombre normal.

J'ai échoué dans l'expérience suivante, mais la dose était trop forte et l'animal a succombé très rapidement ; il est intéressant de noter qu'il n'y avait pas de leucopénie ; le sang était coagulable et non hémolysé.

155. — 1 cmc. 5 de sérum d'anguille frais dilué dans 8 centimètres cubes eau salée.

Injection intra-veineuse à un chien de 20 kilos : l'animal a succombé en 1 minute 30 secondes.

Le sang recueilli au bout d'une minute jusqu'à la fin contient des globulins en nombre normal (citraté à 1 0 0). Leucocytes absolument intacts.

Pas de leucopénie. Coagulation du sang en 10 minutes (paraffine).

Pas d'hémolyse.

L'expérience suivante avec l'extrait de sangsue permet de constater *in vitro* l'agglutination des globulins dans un sang incoagulable, recueilli une heure après l'injection.

124. — 25 têtes de sangsues officinales, conservées dans l'alcool absolu, sont mises à macérer 24 heures dans 20 centimètres cubes d'eau. On les met 2 heures à l'étuve à 50° et on ajoute de l'eau salée à 9 0/0 de manière à obtenir 50 centimètres cubes de liquide. On injecte la totalité dans la veine tibiale d'une chienne de 19 kilos qui est saignée au bout d'une heure.

Sang recueilli dans la paraffine et examiné après 20 minutes de sédimentation : les globulins sont arrondis, irréguliers, beaucoup en amas de 15 à 20.

Sang citraté à 1 0/0 : globulins absolument normaux.

Le sang conservé dans la paraffine n'était pas coagulé au bout de 24 heures.

Les deux expériences suivantes, dans lesquelles les animaux ont été saignés à des moments différents, montrent la disparition et le retour des globulins ; le résultat est le même, que l'on utilise un extrait de sangsues anti-coagulant (h. officinalis) ou non.

353. — *Chien* neuf, 15 kilos.

15 têtes de sangsues non officinales conservées dans l'alcool absolu sont séchées, broyées, traitées par l'eau bouillante, macérées 24 heures ; l'extrait isotonisé est injecté dans la veine à 2 h. 55. L'animal vomit, coma.

Saignée A. . . . . 2 h. 57
— B. . . . . 4 h.

Dans le verre A coagule 12 minutes ; B, 15 minutes.
Sang oxalaté A moins de 1 globulin par champ. Leucopénie.
B globulins normaux.

358. — L'extrait de 20 têtes de sangsues officinales, préparées comme l'extrait précédent, est injecté à un chien de 17 kilos à 3 heures.

Saignée A . . . . . 3 heures
— B. . . . . 4 —

A et B n'était pas coagulé à 6 heures.
Sang oxalaté A 1 à 2 globulins par champ.
B globulins normaux.

La propriété de faire disparaître temporairement les globulins de la circulation n'est pas spéciale aux substances anti-coagulantes ; je rapporte deux expériences anciennes avec la gélatine ; la première de ces expériences avait pour but de voir si l'antagonisme entre la gélatine et la peptone (Dastre et Floresco) (1) se poursuivait dans leur action sur les globulins. Après injection de ces deux substances simultanément, j'ai constaté la disparition et, dans une expérience de contrôle, j'ai vu que la gélatine, à elle seule, était capable de produire cette action. Au cours de cette dernière expérience, j'ai sacrifié l'animal avant le retour complet des globulins. On remarquera encore la présence de globulins dans le sang du foie, plus nombreux que dans le sang artériel.

254. — *Chien* neuf, 24 kilos.

Solution de peptone de Witte à 15 0/0 dans NaCl à 7 0/00.

Solution de gélatine à 5 0/0 dans NaCl à 7 0/00.

A 3 h. 20, injection intra-veineuse de 40 centimètres cubes de la solution de peptone, c'est-à-dire 0 gr. 25 de peptone par kilo ; à 3 h. 21 on commence à lui injecter la solution de gélatine. En 15 minutes il en reçoit 230 centimètres cubes, soit 0 gr. 47 de gélatine par kilo.

Saignée A. . . . . 3 h. 40
— B. . . . . 4 h 5

(1) Dastre et Floresco, Action coagulante des injections de gélatine sur le sang. *Arch. de physiologie*, 1896.

A, à 38°, a coagulé en 25 minutes et s'est rétracté en 1 heure.
B, à 38°, a coagulé en 15 minutes, rétraction.
Le sang a sédimenté très vite.
A, citraté à 1 0/0.
Pas un seul globulin. Leucopénie intense.
B, 2 à 3 globulins par champ : quelques petits amas.

20. — *Chien* neuf, 20 kilos.
De 3 h. 10 à 3 h. 20, injection intra-veineuse de 230 centimètres cubes de la solution de gélatine à 5 0/0, soit 0,57 par kilo.

Saignée A. . . . . 3 h. 25
— B. . . . . 3 h. 40 (l'animal est saigné à blanc).

Le sang A a coagulé en 15 minutes et a rétracté normalement à 38°. Sang oxalaté à 2 0/00 :
A, pas de globulins, leucocytes rarissimes.
B, 8 à 10 globulins normaux par champ, les leucocytes sont plus nombreux.
On fait passer par la veine porte un courant d'eau salée oxalatée à 2 0/00, le liquide de lavage est recueilli dans un verre paraffiné et on centrifuge ; il représente une dilution du sang à 1 p. 12. On y trouve de 25 à 30 globulins plus ou moins altérés par champ d'immersion.

J'ai essayé avec le même résultat un certain nombre de substances organiques douées de propriétés agglutinantes *in vitro* : gomme arabique, ovalbumine, lécithine, glycogène, pancréatine.

221. — Solution de gomme arabique à 10 0 0 dans l'eau salée à 7 0/0, filtrée à chaud.
Chien neuf, 17 kil. 500.
A 3 h. 25, injection intra-veineuse de 50 centimètres cubes (coma).
Saignée A à 3 h. 28. B, à 4 heures. C, à 4 h. 30.
Le sang A et B a coagulé en 14 minutes, rétraction plus forte en A qu'en B.
Il est impossible de trouver un seul globulin dans le sang A ; B et C contiennent des globulins en nombre normal, mais en voie d'agglutination ; le sang a été par erreur citraté à 0.50 0/0 au lieu de 1 0/0.

272. — *Chien* neuf, 24 kilos.
Solution d albumine du blanc d'œuf à 0 gr. 025 par cmc., dans l'eau salée 7 0/00.
De 3 h. 5 à 3 h. 9, injection intra-veineuse de 150 centimètres cubes, soit 0,15 d'albumine par kilo.

Saignée A. . . . . 3 h. 11
— B. . . . . 3 h. 55
— C. . . . . 4 h. 45

A 4 h. 53, on injecte de nouveau 150 centimètres cubes de la solution dans une veine :

Saignée D. . . . . 5 h.

Citraté à 1 0/0.

A, pas de globulins : on trouve avec peine 2 à 3 amas dans toute une préparation, leucopénie.

B, globulins moitié moins nombreux que la normale, quelques amas.

C, globulins en nombre normal, quelques rares amas.

D, globulins rarissimes, quelques petits amas.

A coagule en 6 minutes, B en 8 minutes, C en 15 minutes, D en 20 minutes. A et B ont commencé à rétracter au bout d'une heure.

Dans les quatre tubes, la rétraction était parfaite au bout de 24 heures.

285. — 2 grammes de lécithine du jaune d'œuf sont émulsionnés avec 0 gr. 50 de carbonate de soude et 80 centimètres cubes de NaCl 7 0/00. On injecte après filtration 70 centimètres cubes par voie intra-veineuse à un chien de 12 kil., à 3 h. 35.

Saignée A (pression très forte) . . . . . 3 h. 38

— B . . . . . 4 h. 35

Le sang A a coagulé en 5 minutes : rétraction rapide.

En A, 3 à 4 globulins par champ d'immersion, leucopénie intense.

En B, globulins absolument normaux.

282. — Pancréatine amylacée *in vivo*.

2 grammes pancréatine sont émulsionnés dans 100 centimètres cubes NaCl 9 0/00. Filtration sur ouate. On recueille 80 centimètres cubes de liquide. On en injecte 70 centimètres cubes par voie intra-veineuse à un chien de 12 kilos, à 3 h. 21 ; l'animal vomit : coma.

Saignée A (pression forte) . . . . . 3 h. 23

— B. . . . . 4 h. 25

Le sang A a coagulé en 10 minutes dans le verre : rétraction parfaite au bout de 24 heures.

Citraté à 1 0/0 : 4 à 5 globulins par champ d'immersion et quelques petits amas : leucopénie intense.

Le sang B : globulins normaux : les leucocytes ont également reparu.

442. — *Chien*, 14 kilos.

4 grammes glycogène de foie de moule sont dissous dans 240 centimètres cubes NaCl 9 0/00.

Injection intra-veineuse à 3 h. 55, l'animal s'agite, puis tombe en somnolence.

Saignée A . . . . . 3 h. 57

— B . . . . . 4 h. 30 (animal réveillé).

A coagule 60 à 75 minutes (coagulation progressive).

Citrate à 1 0/0 : on trouve par champ d'immersion 1 ou 2 amas de 15 à 20 globulins agglutinés. Leucopénie.

B coagule en 15 minutes.

Citrate 1 0/0. Tous les globulins, isolés et normaux : semblent diminués de nombre.

Les leucocytes ont reparu.

Les extraits de tissus, les émulsions d'huile produisent aussi la disparition des globulins ; le lait, également. Toutes ces substances sont agglutinantes *in vitro*.

319. — *Chien* neuf, 15 kilos.

Solution A, 0 gr. 50 extrait éthéré de muscles de chien, émulsionnés avec 0 gr. 10 carbonate de soude et 25 centimètres cubes eau salée.

Solution B, 1 gr. extrait + 0 gr. 20 carbonate + 40 centimètres cubes eau salée.

A 3 h. 10 injection de A dans la saphène.

Saignée A à 3 h. 15.

A 3 h. 50, injection de B et saignée B à 3 h. 55.

A coagule en 5 minutes, B en 6 minutes ; A et B rétractent normalement.

Sang citraté à 1 0/0.

En A, 8 à 10 globulins par champ 1/12 et 2 à 3 amas de 10 à 15 éléments.

En B, les amas sont plus rares et on ne compte guère que 4 à 5 globulins par champ.

289. — Extrait éthéré de muscles de cobaye.

1 gr. extrait a été émulsionné avec 0 gr. 10 de carbonate de soude et 25 centimètres cubes d'eau salée ; il y a eu une grosse perte sur les filtres

Chien neuf, 19 kilos.

Injection intra-veineuse de 25 centimètres cubes à 3 h. 38. Coma.

Saignée A . . . . . 3 h. 44.

— B . . . . . 4 h. 4.

Le sang A a coagulé en 5 minutes et rétracté rapidement.

Le sang B a coagulé en 7 minutes ; au bout de 24 heures la rétraction était plus forte avec A qu'avec B.

Sang citraté à 1 0/0.

A, les globulins isolés sont rarissimes ; il n'y en a pas dans tous les champs ; on trouve des amas de 5 à 10 ; tous les globulins, isolés ou agglutinés, ont une forme allongée. Leucopénie.

B, globulins normaux.

300. — Huile d'olive.

10 centimètres cubes d'huile sont émulsionnés avec 0 gr. 50 de carbonate de soude et 100 centimètres cubes de Nacl 9 0/00. Filtration sur papier.

Chienne neuve, 26 kilos.

A 3 h. 15, injection de 50 centimètres cubes. Coma. L'animal s'éveille à 3 h. 20.

Saignée A. . . . . 3 h. 20.
— B . . . . . 3 h. 55.

Coagulation et rétraction normales sur les deux échantillons.

A, citraté à 1 0 0, globulins diminués des 3/4, amas de 10 à 20.

B, globulins en nombre normal.

303. — *Chien* neuf, 19 kilos.

10 centimètres cubes d'amandes douces sont émulsionnés avec 0 gr. 25 de carbonate de soude et 40 centimètres cubes de NaCl 9 0/00. On filtre sur ouate.

Injection intra-veineuse de la solution à 2 h. 55 ; l'animal qui n'a pas paru incommodé subit une première saignée à 3 h. 5 (A).

25 centimètres cubes d'huile sont émulsionnés avec 0 gr. 50 de carbonate et 60 centimètres cubes NaCl ; on filtre et on injecte le tout à 3 h. 20 Coma de 3 à 4 minutes. On saigne alors l'animal au moment où il commence à se réveiller. Saignée B à 3 h. 25. Saignée C à 3 h. 40.

A partir de 4 heures, l'animal a été pris de dyspnée : il a succombé dans la nuit.

A, B et C coagulent et rétractent normalement.

Sang citraté à 1 0/0.

A, les globulins sont diminués de moitié, il y a quelques petits amas.

B, les globulins, isolés, sont rarissimes ; dans chaque champ d'immersion on trouve 2 à 3 agglutinats de 15 à 20 globulins.

C, globulins de nombre normal.

360. — *Chien*, 17 kilos, ayant eu la veille une injection d'extrait de têtes de sangsues. Le sang est redevenu normal au point de vue coagulation.

A 4 h. 7, injection intra-veineuse de 80 centimètres cubes de lait de vache écrémé par centrifugation, étendu de 40 centimètres cubes NaCl 9 0/00. — L'animal s'agite, tombe dans un état d'obnubilation passager. Saignée immédiate (A).

Saignée B à 5 heures.

A et B coagulent en 15 minutes.

Sang oxalaté A, en trouve 2 ou 3 amas de 5 à 6 globulins par champ d'immersion.

Sang oxalaté B, globulins diminués de nombre et quelques petits amas.

La saponine, qui agglutine les globulins *in vitro*, les fait disparaître *in vivo*.

549. — *Chien*, 12 kilos (saigné quatre jours avant).

A 3 h. 50, injection intra-veineuse de 40 centimètres cubes d'une solution de saponine à 2 0/0 dans NaCl 9 0/00, soit 0 gr. 066 par kilo. Coma. Saignée A à 3 h. 53 (pression artérielle forte). L'animal est sorti de sa torpeur à 4 h. 10. Saignées B à 4 h. 25 : C à 5 h. 10.

A, coagulé en 4 minutes. B et C en 15 à 20.

Sang citraté à 1 0/0, les trois plasmas sont hémolysés :

A, disparition complète des globulins, leucopénie extrême.

B, amas de 20 à 30 globulins, il n'y a presque pas de globulins isolés, leucocytes plus nombreux.

C, globulins en petits amas de 5 à 10 éléments, environ 1/4 du nombre normal.

L'argent colloïdal électrique, le sulfure d'arsenic colloïdal, se comportent comme les colloïdes organiques.

313. — *Chien* neuf, 13 kilos.

De 3 h. 40 à 3 h. 45, injection intra-veineuse de 45 centimètres cubes d'argent colloïdal électrique isotonique stabilisé. Subcoma. Saignée A à 3 h. 47. Saignée B à 4 h. 15.

A coagule en 5 minutes.

B coagule en 10 minutes. Deux échantillons de B ont rétracté.

Un seul, de A sur deux, rétracte.

Citrate à 1 0/0.

A, 2 à 3 amas de 8 à 10 globulins par champ.

271. — *Chien*, 16 kilos, ayant subi la veille une saignée de 100 centimètres cubes.

A 2 h. 57, injection de 15 centimètres cubes d'argent colloïdal électrique isotonique dans la veine tibiale.

Saignée A . . . . . 3 h 5

— B . . . . . 3 h. 50

Citraté à 1 0/0.

A, globulins diminués de moitié, quelques amas.

B, globulins normaux.

A et B coagulent en 10 minutes et rétractent.

299. — Solution de sulfure d'arsenic colloïdal isotonique à 0 gr. 002 par centimètre cube.

Chien neuf, 11 kilos.

Injection intra-veineuse de 10 centimètres cubes à 2 h. 45, coma.

Saignée A . . . . . 2 h. 50

— B . . . . . 3 h. 55

Coagulation et rétraction normales sur les deux échantillons.

A, citraté à 1 0/0.

Pas de globulins, leucocytes rarissimes.
B, globulins normaux comme nombre et qualité.

Dans les deux expériences suivantes avec le mercure, j'ai compté le nombre des leucocytes avant, immédiatement après l'injection, et au moment de la réapparition des globulins (sang artériel) :

419. — *Chien*, 6 kilos.
A 3 h. 5 : 7.056 leucocytes.
3 h. 20, injection intra-veineuse de 25 centimètres cubes mercure colloïdal électrique stabilisé isotonique.
3 h. 22. Saignée A : 3.808 leucocytes.
Citrate 1 0/0. Globulins très diminués. Petits amas. Coagulation en 10 minutes. Rétraction normale.
4 h. 5. Saignée B : 8.570 leucocytes.
Citrate 1 0/0. Globulins normaux.

497. — *Chien*, 6 kilos. Or colloïdal préparé en réduisant du chlorure par l'hydrazine, dialysé 6 semaines ; solution violette, non stabilisée ni isotonisée.
Sang d'une artériole de la fémorale avant l'injection = 10.400 leucocytes.
Injection à 2 h. 58 de 70 centimètres cubes : agitation ; saignée B à 3 heures ; C à 3 h. 33 ; D à 4 h. 5.
Les trois saignées, de 80 à 100 grammes, ont été pratiquées à la fémorale qui a été liée après la saignée B.
Des échantillons B, C, D ont été citratés à 1 0/0.
B. Coagulation en 28 minutes.
Citrate : globulins diminués de moitié et petits amas.
Leucocytes = 1.600.
C. Coagulation en 18 minutes.
Leucocytes = 1.600.
Citrate : globulins de nombre presque normal, tous isolés.
D coagule 10 minutes.
Leucocytes = 4.000.
Citrate = Aspect normal.

Le venin de cobra (Institut Pasteur de Lille), qui n'agglutine pas les globulins *in vitro*, n'amène pas leur disparition *in vivo*.

351. — *Chien* neuf, 23 kilos.
A 3 h. 35 injection intra-veineuse de 0 gr. 01 de venin de cobra dissous dans 10 centimètres cubes d'eau salée.

Saignée A. . . . . 3 h. 37
Saignée B. . . . . 3 h. 55

L'animal meurt à 4 h. 20 ; prise de sang dans la veine cave inférieure (C).

A et B coagulent en 1 heure, caillots mous.

Le sang sédimente très lentement et a dû être *longuement* centrifugé ; les globulins (A, B, C) de nombre normal, étaient très altérés, irréguliers, mais il y a lieu de tenir compte du refroidissement.

J'ai fait un certain nombre de recherches avec des échantillons de bleu de Prusse non agglutinants *in vitro* : j'ai vu la persistance des globulins *in vivo*, mais depuis j'ai eu des échantillons de bleu agglutinants et je me propose de reprendre ces expériences avec numérations.

Un certain nombre de matières colorantes et de sérums sont agglutinants *in vitro*, font disparaître *in vivo* les globulins ; des expériences sur ce sujet sont rapportées aux chapitres VII, X, XI.

Des expériences rapportées au cours de ce chapitre se dégagent un certain nombre de faits. C'est d'abord la possibilité de faire disparaître plus ou moins complètement les globulins de la circulation, et la disparition des globulins s'accompagne d'une leucopénie très marquée. Les leucocytes commencent à augmenter de nombre lorsque les globulins reparaissent. Un même mécanisme explique vraisemblablement les deux phénomènes, et je l'ai discuté en étudiant l'action de la peptone ; le fait que je tiens à mettre en évidence, c'est la leucopénie accompagnant la disparition des globulins.

Un grand nombre de substances sont capables de produire la disparition des globulins, substances organiques ou non organiques ; elles n'ont qu'un caractère commun, c'est d'être toutes des subtances colloïdales et d'agglutiner les globulins *in vitro*. Leur action sur l'organisme est des plus variables ; elles agissent de façons diverses sur la pression artérielle ; les unes la font baisser considérablement (peptone), d'autres l'augmentent (gélatine). Les unes rendent le sang incoagulable (peptone, sérum d'anguille, etc.), d'autres augmentent sa coagulabilité (gélatine) ; un grand nombre sont indifférentes.

Cependant toutes les fois que j'ai produit la disparition des globulins, j'ai produit en même temps des accidents nerveux (agitation, somnolence, coma).

Au point de vue de la technique expérimentale, plusieurs indications sont à retenir de ces expériences ; c'est d'abord la possibilité d'avoir des plasmas sans globulins ; de plus, il ne suffit pas de constater, après injection d'une substance, la disparition des globulins, pour affirmer que cette substance est globulinolytique ; il faut avoir constaté que cette disparition n'est pas temporaire, et qu'il n'y a pas rétention dans un organe profond, tel que le foie.

§ 4. — Effets des injections de peptone chez le chat et le mouton.

J'ai indiqué chapitre VI que l'agglutinabilité *in vitro* des globulins n'était pas la même chez les différentes espèces animales. Les deux expériences suivantes *in vivo* montrent que la disparition des globulins est soumise également à des lois différentes suivant les espèces envisagées. Avec la peptone, j'ai échoué chez le chat et le mouton (1) mais je n'ai pas davantage observé les effets ordinaires de l'injection de peptone.

579. — *Chatte*, 3 kil. 600, en digestion.

Anesthésie chloroformique.

Injection intra-veineuse de 25 centimètres cubes peptone Witte à 5 0/0 soit 0 gr.345 par kilo, à 3 h. 10. Saignée à 3 h. 12. Le sang coagule en 20 minutes, la pression artérielle n'est pas tombée. Dans le plasma citraté à 1 0/0, les globulins se présentent avec l'aspect normal. Pas de leucopénie.

576. — Il s'agit de la *brebis* dont l'observation est rapportée au chapitre III. Animal en digestion, 21 kil. 500.

Saignée préliminaire A: carotide droite, 400 centimètres cubes.

(1) Chez le mouton, j'ai déterminé le nombre de globulins ou plus exactement le rapport $\frac{R}{Gl}$ avant et après l'injection de peptone. J'ai trouvé avant 3,27 ; après, 2,82. Cette légère augmentation des globulins est de l'ordre de celle qu'on observe à la fin d'une saignée (V. chap. XII).

Coagulation en 4 minutes. Rétraction en deux heures.

$\frac{R}{Gl} = 3{,}27$ (saignées et suppuration).

A 3 h. 5 injection intra-veineuse rapide dans la jugulaire de 100 centimètres cubes peptone Witte à 10 0/0, soit 0 gr. 44 par kilo.

Saignée B^1 3 h. 7.

— B^2 3 h. 9. Carotide gauche.

La pression artérielle a baissé un peu (saignée antérieure de 400 gr.). Mort à 3 h. 15 (ligature des deux carotides).

B^1 et B^2 ont coagulé en 10 minutes et rétracté plus rapidement que A.

B^1 et B^2 (citrate 3 0 0) contiennent un nombre normal de globulins.

La numération pour B^2 donne $\frac{R}{Gl} = 2{,}82$.

On voit par ces expériences que la disparition des globulins n'est pas un phénomène irrégulier dû à une faute de technique. En effet :

1° On ne l'observe qu'avec les substances agglutinant les globulins *in vitro* ;

2° La peptone ne le produit que chez les espèces, dont elle agglutine les globulins *in vitro*.

Agglutinabilité et disparition des globulins sont deux phénomènes de même ordre, en relation avec l'équilibre physico-chimique du plasma. Cet équilibre est constant pour une même espèce dans les conditions physiologiques : il représente une véritable *constante* physiologique. Cette constante physiologique est susceptible de varier dans certaines conditions expérimentales ainsi que je l'indiquerai chapitre XI.

CHAPITRE X

ACTION DES SÉRUMS HÉTÉROGÈNES SUR LES GLOBULINS

Un certain nombre de travaux ont été consacrés dans ces dernières années à l'étude de l'action des sérums sur les globulins.

Le Sourd et Pagniez, en faisant de trois à cinq fois, à huit jours d'intervalle, l'injection dans le péritoine d'un cobaye des hématoblastes extraits par leur procédé de 20 à 40 centimètres cubes de sang de lapin, obtiennent un sérum anti-hématoblastique *in vitro* et *in vivo*.

In vitro, les auteurs se bornent à dire que leur sérum détruit les hématoblastes du lapin ; ils ne signalent pas qu'il soit agglutinant, ce qui est le cas des autres sérums spécifiques que nous allons étudier.

In vivo, ce sérum produit la disparition des hématoblastes, accompagnée d'irrétractilité du caillot, lorsqu'on l'injecte à la dose de 1 à 2 centimètres cubes par kilo dans la veine d'un lapin. Il ne se produit ni agitation, ni polypnée, ni myosis.

R. I. Cole (1907) a obtenu un sérum anti-plaquettes pour les plaquettes du sang humain ; il isole les plaquettes par le citrate ou l'oxalate et les injecte au lapin.

Le sérum du lapin devient fortement agglutinant pour les plaquettes du sang humain, son pouvoir hémolytique n'étant pas sensiblement modifié.

Sacerdotti, avec une technique analogue, a préparé un sérum anti-plaquettes pour le chien, sérum actif *in vitro* et *in vivo*.

In vitro, le sérum de Sacerdotti a la propriété, que n'a pas un sérum neuf, d'agglutiner les plaquettes en suspension dans le li-

quide de Sacerdotti (1). *In vivo*, en injection intra-veineuse, ce sérum amène la disparition rapide des plaquettes, et cette disparition s'accompagne, ce qui n'est pas le cas avec le sérum de Le Sourd et Pagniez, de phénomènes généraux graves. De plus, d'autres sérums, sérums hémolytiques, sérums anti-plasma et sérums hétérogènes neufs, — ce qui est conforme aux constatations que je faisais à la même époque — amènent, mais d'une façon moins durable, la disparition des plaquettes.

Chevrel et Roger, Chevrel et Bourdinière ont également préparé un sérum anti-hématoblastique en utilisant des hématoblastes isolées au moyen du citrate de soude.

Du court exposé de leurs travaux, il résulte que ce sérum détruit les hématoblastes *in vitro*. D'autre part, un sérum hémolytique, préparé exclusivement avec des globules rouges, est encore destructeur et agglutinant pour les hématoblastes.

J'ai appliqué à l'étude des sérums neufs la technique que j'avais employée pour l'étude des substances étrangères à l'organisme et je suis arrivé à cette conclusion que tous les sérums, y compris le sérum de l'animal lui-même, sont agglutinants et lytiques pour les globulins. Dans cette question, la technique est capitale et je n'ai étudié l'action des sérums qu'après avoir établi la morphologie, les conditions de survie et d'agglutination des globulins.

Celte étude des sérums comprend naturellement, comme l'étude des solutions colloïdales, deux parties : 1° action des sérums *in vitro* ; 2° action des sérums *in vivo*.

§ 1. — Action in vitro des sérums sur les globulins.

Sauf quelques cas spéciaux, indiqués dans les protocoles d'expérience, je me suis toujours servi de sérums provenant de sang

(1) Chlorure de sodium 0,50
Citrate de soude 0,50
Eau 100,00
On mélange à parties égales avec le sang.

pris à l'intérieur des vaisseaux : après ce que j'ai exposé sur l'action des tissus, je n'ai pas besoin d'indiquer pourquoi le sérum recueilli au niveau d'une plaie possède un pouvoir agglutinant et globulinolytique surajouté.

Les expériences que je vais rapporter concernent le sang du chien ; les conditions expérimentales sont restées les mêmes (prise de sang à l'abri des tissus, milieu paraffiné, température de 38°).

J'ai fait un grand nombre d'essais avec le sérum anti-diphtérique et le sérum d'âne. En faisant agir, une heure ou deux, 1 centimètre cube de ces sérums sur 9 centimètres cubes de sang de chien citraté à 1 0/0 ou oxalaté à 2 0/00, on n'observe pas d'agglutination. En ce qui concerne le sérum d'âne, les résultats sont les mêmes, avec le sérum frais qu'avec le sérum chauffé à 52-55°, et je ne pense pas que le chauffage détruise le pouvoir agglutinant, comme le montrent quelques expériences que je rapporte plus loin.

Les sérums de lapin et de cobaye, dans ces mêmes conditions, sont fortement agglutinants.

Le sérum de chien normal, dans les mêmes conditions, n'est pas agglutinant, mais si l'on veut bien considérer le compte-rendu des expériences 447, 455, 477, rapportées ci-dessous on verra que le sérum de chien infecté de trypanosomes (1) ou de piroplasmes, le sérum de chien laqué acquièrent des propriétés agglutinantes.

On trouvera également un certain nombre d'observations dont j'ai déjà parlé chapitre VI (agglutination par le plasma de peptone durant la phase de disparition des globulins, agglutination par le sérum d'anguille et l'extrait de muscles d'écrevisse).

J'attire l'attention sur l'expérience 497 que je rapporte uniquement pour montrer l'importance de la manière dont le sang est

(1) Sérum de chien infecté par Trypan. Pecaudi. Ce chien n'avait que 41.400 globulins par millimètre cube, et 41.000 trypanosomes : on est en droit de se demander si la présence des trypanosomes n'explique pas les propriétés nocives de ce sérum pour les globulins *in vitro* (voir plus loin au chapitre XII les documents sur les infections à trypanosomes).

recueilli : il s'agit d'une saignée au cours de laquelle l'animal avait remué, et l'aiguille avait pénétré dans la paroi artérielle au lieu de rester à l'intérieur du vaisseau. Dans ces conditions, sang oxalaté à 2 0/00, j'ai eu une forte agglutination avec le sérum anti-diphtérique et le sérum du chien lui-même.

487. — *Chien*, deuxième saignée.
Sang oxalaté à 2 et 4 0/00 (oxalate AzH^4).
Sérums chien, lapin et cobaye, 48 h., recueillis à l'abri des tissus.
Sérum anti-diphtérique.
Sang oxalaté à 2 0/00, contact 2 heures.

9 cmc. sang	+ 1 cmc.	sérum chien	=	pas d'agglutination.
9 —	+ 0,5	— lapin	=	agglutination très faible.
9 —	+ 0,5	— cobaye	=	pas d'agglutination.
9 —	+ 1	sérum anti-diphtérique	=	pas d'agglutination.

383. — Sang de *chien* oxalaté à 2 0/00.
Sérums de lapin (24 h.), de chien (24 h.) laqué, plasma de peptone de 24 h. (chien de 19 kilos ayant reçu 70 cmc. de peptone Witte à 20 0/0, saigné 2 minutes après l'injection). Contact, 1 h. à 38°.

9 cmc. sang	+ 1 cmc.	sérum lapin.	Agglutination intense.
9 —	+ 1	— sérum chien-laqué.	Agglutination forte.
9 —	+ 1	— plasma peptone.	Agglutination moyenne.

384.— Sang de *chien* oxalaté à 2 0/00. Sérum anti-diphtérique et sérum d'âne stérile. Au bout de 60 minutes, 38°, agglutination, nulle avec 1 cmc. sérum pour 10 de sang.

365. — Sang de *chien* (intoxication uranique), oxalaté à 2 0/00.

9 cmc. sang	+ 1 cmc.	sérum cobaye, 1 h. 15,	agglutination complète.
9 —	+ 1	— sérum chien, 1 h. 20,	agglutination nulle.

455. — Sang de *chien* oxalaté à 2 0/00 et citraté à 1 0/0.
Sérum anti-diphtérique, sérum d'âne (anti-tuberculeux, chauffé 1 heure pendant 10 jours). Sérum lapin, 48 h. Sérum chien, 24 h, hémolysé. Sérum chien (infection à Trypan. Pecaudi : 41.400 trypans par millimètre cube, sérum de 24 heures.
A. — 9 cmc. sang oxalaté + 1 cmc. sérum, 1 h. à 38°.
Lapin : agglutination complète.
Anti-diphtérique, âne : agglutination faible.
Pecaudi, chien hémolysé : — moyenne.
B. — 9 cmc. sang citraté + 1 cmc. 2 h. 30 à 38°.
Ane, anti-diphtérique : agglutination nulle.
Pecaudi, chien hémolysé : — faible.
Lapin : — moyenne.

475. — *Chien*, 2e saignée.

Sang oxalaté à 2 0/00 (oxalate K).

Sérum de chien (hémolysé par infection à piroplasmes). Contact, 2 h.

9 cmc. sang + 1 cmc. sérum piroplasme = agglutination très forte, globulins allongés.

9 cmc. sang + 1 cmc. anti-diphtérique = globulins allongés, quelques-uns en amas de 3 à 4.

417. — *Chien*, 2e saignée.

Sang oxalaté à 2 0/00.

Sérum de chien neuf, 24 heures.

Sérum du même chien après congélation du sang, sérum fortement hémolysé.

Sérum de chien nagané (24 h.). Contact, 2 h.

9 cmc. sang + 1 cmc. sérum chien neuf. Pas d'agglutination.

9 — + 1 cmc. — hémolysé. Traces d'agglutination.

9 — + 1 cmc. — nagané. —

384. — *Chien* 3e saignée. Sang oxalaté à 2 0/00.

Contact, 60 minutes.

1 cmc. sérum anti-diphtérique + 9 cmc. sang = agglutination nulle.

1 — sérum d'âne + 9 — sang = agglutination nulle.

1 — urine de chien (albumine) + 9 — sang = agglutination forte.

497. — *Chien*. 2e saignée dans de mauvaises conditions ; l'animal a remué : l'aiguille n'est pas restée à l'intérieur du vaisseau et s'est engagée dans la paroi artérielle. Le sang a été oxalaté à un peu moins de 2 0/00.

Sérum du chien lui-même (24 h.).

Sérum anti-diphtérique.

Contact, 1 h. 30.

9 cmc. sang + 1 cmc. sérum chien = un ou deux petits amas par champ globulins irréguliers.

9 cmc. sang + 1 cmc. sérum anti-diphtérique = agglutination presque totale.

J'ai montré, chapitre VI, que l'agglutination des globulins dépendait de deux facteurs : le taux de la substance agglutinante, le taux de la substance anti-agglutinante. Il n'était pas possible de procéder pour les sérums de la même manière que pour les solutions de peptone dont on peut augmenter la concentration ; j'ai donc fait agir une plus grande quantité de sérum sur des globulins, le taux d'oxalate restant le même dans le mélange, 2 0/00 ; à 3 centimètres cubes de sang oxalaté à 4 0/00 (90 centimètres

cubes de sang pour 10 centimètres cubes d'oxalate à 4 0/0) j'ai ajouté 5 centimètres cubes de sérum (1). Dans ces conditions, avec les sérums d'âne, de cheval, de mouton, de chien chauffés à 55°-56°, j'ai obtenu une agglutination forte ou complète et des altérations morphologiques.

506. — *Chien.* Une saignée quatre jours avant.
Sang oxalaté à 4 0/00 (oxalate de soude).
Sérum d'âne stérile.
Sérum de chien (chien n° 17, caderé sérum de 48 h., chauffé deux fois pendant 30 minutes à 54°).
Eau salée 9 0/00. Sérums et solution à 38°.
Contact, 2 h.
5 cmc. sang + 5 cmc. sérum âne = agglutination totale ; globulins très altérés.
5 cmc. sang + 5 cmc. sérum chien = agglutination forte ; globulins très altérés.
5 cmc. sang + 5 cmc. NaCl 9 0/00 = agglutination nulle ; globulins très altérés.

408. — *Chien.* Deux saignées antérieures.
Sang oxalaté à 4 0/00 (oxalate de potasse).
Sérum de chien (7 jours).
Contact, 1 h. 30.
5 cmc. sang + 5 cmc. NaCl 9 0/00 = globulins isolés.
5 cmc. sang + 5 cmc. sérum chien = globulins isolés tout à fait rares ; très altérés ; masses granuleuses.
5 cmc. sang + 5 cmc. sérum âne stérile = id.

573. — Sang de *chien* oxalaté à 4 0/00 (oxalate de potasse).
Sérum mouton chauffé.
5 cmc. sang + 5 cmc. sérum. 45 minutes. Les globulins ont disparu, il ne reste plus que quelques masses granuleuses.
5 cmc. + 5 cmc. NaCl 9 0/00. 45 minutes. Globulins altérés, très légère agglutination.

394. — *Chien.* 3e saignée. Sang oxalaté à 4 0/00. Contact, 2 h.
5 cmc. sang + 5 cmc. NaCl 9 0/00 = agglutination nulle.
5 — sang + 5 — sérum anti-diphtérique = agglutination complète en masses granuleuses.

(1) Sérums chauffés pour éviter la coagulation qui se produit rapidement avec ces doses de sérum, sérums neufs de mouton et de chien.

487. — Sang oxalaté à 4 0/00.

5 cmc. sang + 5 cmc. NaCl 9 0/00 = 2 0/00 oxalate. Agglutination nulle ; globulins très altérés.

5 cmc. sang + 5 cmc. sérum anti-diphtérique. Agglutination totale ; globulins très altérés.

Les différents sérums qui agglutinent les globulins leur impriment également des altérations morphologiques. Ces altérations sont au maximum avec le sérum d'anguille. Avec les sérums peu actifs, on observe des formes d'altérations longues.

On est en droit de se demander, après ce que j'ai dit sur l'action de la dilution sur les globulins, si dans la deuxième série d'expériences que je viens de rapporter, il n'y a pas lieu de tenir compte de la dilution. L'expérience suivante montre que les sérums citratés à 1 0/0, de manière à neutraliser leurs actions nocives propres, et à ne faire intervenir que la dilution, altèrent morphologiquement les globulins, mais moins que l'eau salée ; les grosses altérations signalées avec les sérums non neutralisés, et ajoutés au sang à parties égales, relèvent donc à la fois et de la dilution et de l'action propre du sérum.

435. — Sang de *chien*, 2e saignée, citraté à 1 0/0.

Sérums chien (48 h.), anti-diphtérique et eau salée 9 0/00, citratés à 1 0/0 par addition de 10 p. 90, de citrate à 10 0/0. Les mélanges ont été faits à la température de 39°.

Contact de 1 h. 15 à 1 h. 30.

A. — *Sérum de chien.*

8 cmc. sang + 2 cmc. sérum = formes d'altérations longues : les deux tiers des éléments sont normaux.

6 — + 4 — = à peu près le même résultat.

2 — + 8 — = tous les globulins sont arrondis, irréguliers, finement granuleux.

B. — *Sérum anti-diphtérique.* — Mêmes proportions : les altérations sont un peu plus fortes.

C. — *Eau salée.*

8 cmc. sang + 2 cmc. NaCl = 1/3 des globulins normaux.

6 — + 4 — = globulins normaux rarissimes.

2 — + 8 — = tous arrondis, irréguliers.

D'une manière générale, les altérations sont plus marquées avec l'eau salée qu'avec les sérums.

Je rapporte l'expérience suivante dans laquelle j'ai étudié comparativement l'action des mêmes sérums sur du sang oxalaté à 2 et 4 0/00, et citraté à 1 0/0. On remarquera que la différence de pouvoir anti-agglutinant entre le citrate 1 0/0 et l'oxalate 2 0/00 est absolument la même en ce qui concerne les sérums et les substances colloïdales.

477. — *Chien*, 3e saignée.

Sang oxalaté à 2 et 4 0/00 (oxalate AzH^4) et citraté à 1 0/0.

Sérum d'anguille du matin, extrait de muscles d'écrevisse bouilli.

A. — Sang oxalaté à 4 0/00. Contact, 2 h. 15.

5 cmc. sang + 5 cmc. NaCl 9 0/00. Aucune agglutination : les trois quarts des globulins altérés (formes arrondies ou altérations longues).

5 cmc. sang + 5 cmc. sérum d'âne. Tous les globulins sont en amas, de 15 à 20 : formes arrondies ou ovalaires, formes granuleuses.

5 cmc. sang + 5 cmc. sérum anti-diphtérique. Même résultat.

B. — Sang oxalaté à 2 0/00. Contact, 2 h.

Sérum chien hémolysé, par infection à piroplasmes, non chauffé et chauffé : 1 h. à 56°.

Extrait de muscles d'écrevisse (Delezenne).

Sérum d'anguille frais (obtenu par décapitation).

9 cmc. sang + 1 cmc. sérum chien. Agglutination légère.

9 — + 1 — sérum chien chauffé. Agglutination légère.

9 — + 1 — NaCl 2 0/00. Agglutination nulle.

9 — + 0 — 2 sérum anguille. Agglutination complète, globulins arrondis.

9 cmc. sang + 1 cmc. extrait de muscles. Agglutination complète, globulins arrondis.

C. — Sang citraté, à 1 0/0.

L'extrait de muscles d'écrevisse, le sérum d'anguille, même taux, même temps, ne produisent ni altération, ni agglutination.

§ 2. — Action sur les globulins des sérums hétérogènes in vivo.

Lorsqu'on injecte du sérum d'âne ou de cheval chauffé dans les veines d'un chien neuf, à condition de faire l'injection à doses suffisantes (8 à 10 cmc. par kilo), on observe des phénomènes nerveux, une baisse de la pression artérielle et un retard dans la coagulation du sang. Les phénomènes ne sont pas aussi immé-

diats dans leur apparition qu'à la suite d'une injection de peptone ; ils se produisent en 2 ou 3 minutes. En ce qui concerne les globulins, on observe les mêmes effets qu'avec la peptone ; disparition temporaire accompagnée de leucopénie. *In vitro*, aussi bien qu'*in vivo*, nous retrouvons donc avec les sérums hétérogènes la même concordance d'action qu'avec les substances colloïdales étudiées dans les chapitres VI et IX.

178. — Sérum d'*âne* provenant d'une saignée faite la veille.

Chien neuf, 21 kilos.

De 3 h. 25 à 3 h.30 injection intra-veineuse de 60 cmc. soit 2 cmc.8, par kilo.

Saignée A. . . . . 3 h. 35

— B. . . . . 3 h. 45

— C. . . . . 3 h. 55. L'animal est sacrifié par hémorragie.

A, B, C (citrate, 1 0/0) sont normaux au point de vue globulins.

A a commencé sa coagulation vers 4 h. ; coagulation lente et progressive achevée à 4 h. 40.

B a coagulé comme A.

C, coagulation un peu plus rapide.

Rétraction très lente sur les 3 échantillons.

Autopsie du chien : foyers d'apoplexie sous-pleurales, hémorragie pariétale de la vésicule biliaire, sérosité sanglante dans le péritoine.

341. — *Chien*, 14 kilos (une saignée antérieure).

Sérum d'âne frais, 72 h.

A 3 h., injection intra-veineuse de 90 cmc. de sérum soit 6 cmc.42 par kilo.

L'animal tombe dans le coma : saignée (pression artérielle réduite presque à 0), fractionnée, A^1 (citrate), A^2 (oxalate).

Saignée B à 3 h. 35 (animal réveillé).

A^1, globulins diminués de nombre.

A^2, 7 à 8 globulins par champ, leucopénie.

B, globulins et leucocytes normaux.

Coagulation (verre), A^1 : 1 h.

B : 15 minutes.

341. — Sérum d'*âne* chauffé à 56° et conservé depuis un an.

Chien de 12 kilos, ayant déjà subi une saignée.

A 3 h. 40, injection intra-veineuse de 60 cmc., soit 5 cmc. par kilo. Agitation, coma. Saignée A à 3 h. 42, l'animal se réveille à la fin de la saignée Saignée B à 4 h. 20.

A. — Citrate 1 0/0, 15 à 20 globulins seulement par champ et quelques petits amas ; verre, coagule en 15 minutes.

B. — Oxalate 2 0/00. Globulins à peu près normaux.

369. — *Chien neuf*, 16 kilos.

Sérum d'âne frais (72 h.), non chauffé.

De 3 h. 17 à 3 h. 21, injection intra-veineuse de 125 cmc. de sérum, soit 7 cmc. 81 par kilo. A la fin de l'injection l'animal s'agite, puis tombe dans le coma complet.

A 3 h. 22, saignée de la fémorale, fractionnée en trois verres (A^1, A^2, A^3).

A 4 h. 50, saignée B (animal réveillé).

Sang citraté : A^1, il y a quelques amas et de temps en temps 1 à 2 globulins isolés par champ ; leucopénie.

A^3, disparition presque absolue des globulins.

B, globulins normaux et de quantité normale.

Coagulation dans le verre : A^2, n'était pas coagulé en 2 h. 30 ; coagulation et rétraction en 24 h.

B, coagulation en 15 minutes, rétracté après 24 h.

582. — *Chienne* neuve, 10 kilos.

A 3 h. 45, injection intra-veineuse de 80 cmc. de sérum anti-diphtérique, soit 8 cmc. par kilo.

Les accidents nerveux (agitation, puis coma) ne se produisent qu'au bout de 4 minutes.

Saignée à 3 h. 50. Pression basse.

Sang non coagulé à 6 h.

Sang citraté, 1 0/0 = 10 à 15 globulins par champ d'immersion 1/12 et leucopénie.

L'animal est sorti du coma au bout de 10 minutes.

J'ai obtenu exactement les mêmes résultats avec du sérum de mouton neuf chauffé (8 cmc. par kilo).

573. — *Chien*, 15 kilos (une saignée de 200 gr. la veille).

Avant l'injection, saignée de 100 gr. A' (coagulation en 10 minutes).

De 3 h. 10 à 3 h. 11, injection intra-veineuse de 120 cmc., soit 8 cmc. par kilo, de sérum de mouton chauffé à 54°-56°. A 3 h. 12, après quelques soubresauts, l'animal s'affaisse et à 3 h. 15, coma complet avec miction et défécation.

Saignée A : 3 h. 12, et B : 3 h. 15. La pression artérielle déjà diminuée en A était presque à 0 en B.

L'animal a commencé à se réveiller à 3 h. 40 et a été sacrifiée à 5 h. (saignée C).

B coagule en 1 h. 30 minutes.

C — 0 h. 20 minutes.

Examen du plasma citraté à 1 0/0.

A. — Une quinzaine de globulins par champ 1/12, quelques amas, leucopénie.

B. — Disparition complète des globulins. Leucopénie.

C. — Globulins isolés, normaux, mais diminués de nombre.

A, B, C ont rétracté normalement et également.

CHAPITRE XI

LES GLOBULINS AU COURS DE LA SÉRO-ANAPHYLAXIE CHEZ LE CHIEN

A. Biedl et R. Kraus (1), dans un travail récent sur la séro-anaphylaxie du chien, ont comparé les phénomènes qui suivent la réinjection à ceux qui sont déterminés par l'injection de peptone : baisse de la pression artérielle, incoagulabilité du sang, leucopénie.

M. Arthus, dans un travail paru quelques semaines plus tard et basé sur des expériences exécutées indépendamment, a confirmé les résultats de ces auteurs (2).

Des expériences exécutées plusieurs mois auparavant m'avaient appris que, chez le chien neuf, l'injection de sérum d'âne produisait l'incoagulabilité sanguine et la disparition des globulins (3) ; il était intéressant de rechercher si chez le chien sensibilisé on obtenait la disparition des globulins avec une dose moindre de sérum. De plus, étant donné que jusqu'ici j'ai toujours vu que les substances qui ont fait disparaître les globulins temporairement *in vivo* les agglutinent *in vitro*, que les deux actions *in vitro* et *in vivo* sont entre elles dans un certain rapport de proportionnalité, il était intéressant de voir si le sang du chien sensibilisé était devenu plus agglutinable *in vitro*.

Je vais exposer, séparément, les résultats que j'ai obtenus *in vitro* et *in vivo* : les deux séries d'expériences, portent le même numéro pour le même animal et il sera ainsi facile de comparer sur le même sujet la réaction *in vitro* et *in vivo*.

(1) A. Biedl et R. Kraus, Experimentelle Studien über Anaphylaxie. *Wien. klin. Wochenschrift*, 18 mars 1909, p. 363.

(2) M. Arthus, Sur la séro-anaphylaxie. *Presse médicale*, 1er mai 1909.

(3) Ch. Achard et M. Aynaud, Sur le phénomène de la disparition des globulins. *C. R. Société Biologie*, 26 décembre 1908.

§ 1.

In vitro, j'ai étudié l'agglutination des globulins dans le sang de quatre chiens sensibilisés (deux par le sérum anti-diphtérique, un par le sérum d'âne, et un par le sérum de chien). Dans les quatre cas, l'agglutinabilité des globulins est nettement augmentée et ceux-ci sont devenus agglutinables dans le sang oxalaté à 2 0/00 par un centimètre cube et même 0 cmc. 5 de sérum (sérum d'âne ou de cheval, totalement inactifs dans ces conditions sur le sang de chien neuf).

468. — *Chien*, 19 kilos.
Le 13 et le 22 mai, injection sous-cutanée de 5 cmc. sérum anti-diphtérique.
Saignée le 24 juin.
Sang oxalaté à 2 0/00, citraté à 1 0/0.
9 cmc. sang oxalaté + 1/2 cmc. NaCl 9 0/00. Agglutination nulle.
9 — 5 — + 1/2 — sérum anti-diphtérique. Agglutination forte.
9 — 5 — + 1/2 — bleu de Prusse. Agglutination totale.
Contact, 1 h. 30.
Une série parallèle avec le sang citraté n'a donné aucune agglutination.

543. — *Chien*, 16 kilos, a subi le 30 août une injection de 5 cmc. de sérum de chien chauffé à 54-58°.
Saignée le 11 octobre.
Sang oxalaté à 2 0/00. Contact, 2 h.
9 cmc. sang + 1 cmc. sérum âne chauffé. Agglutination forte.
9 — + 1 — chien frais. Agglutination faible.
9 — + 1 — NaCl. Agglutination nulle.

452. — *Chien*, 21 kilos. Le 15 avril, injection sous-cutanée de 5 cmc. de sérum anti-diphtérique.
Le 12 mai, pèse 19 kilos.
Saignée : sang oxalaté à 2 0/00.
Contact, 1 h. 30.
9 cmc. sang + 1 cmc. sérum anti-diphtérique = agglutination complète.
9 — + 1 — sérum chien neuf, 24 h. = id.
9 — + 1 — infection à Trypan. Pecaudi = agglutination complète.

536. — *Chienne*, 20 kilos.
Le 30 août, 5 cmc. sérum d'âne (chauffé à 54°-58°) sous la peau.

Le 5 octobre. Saignée. Sang oxalaté à 2 0/00.
Contact, 1 h.
9 cmc. sang + 1 cmc. sérum âne. Agglutination forte.
9 — + 1 — anti-diphtérique. Agglutination moyenne.
9 — + 1 — sérum chien. Agglutination faible.
9 — + 1 — NaCl 9 0/00. — traces.

§ 2.

In vivo, j'ai observé à la suite de la réinjection chez l'animal sensibilisé les mêmes phénomènes que ceux que produit une injection de sérum chez le chien neuf, mais avec des doses incomparablement plus faibles : disparition des globulins et leucopénie. Avec 0 cmc. 7 de sérum par kilo, la réaction est ébauchée ; avec 1 cmc. 4, 1 cmc. 5, elle est des plus nettes : la disparition des globulins est tout aussi marquée qu'avec la peptone. J'ai observé également tous les phénomènes signalés par Biedl et Kraus relativement aux accidents nerveux, à la baisse de la pression, au retard de la coagulation. Ces phénomènes n'ont été qu'ébauchés sur le chien sensibilisé par le sérum de chien.

468. — *Chien*, 19 kilos.
13 et 22 mai, 5 cmc. sérum anti-diphtérique sous la peau.
Saignée A, le 24 juin, à 3 h. 40 : coagulation en 25 minutes.
A 3 h. 55, injection intra-veineuse de 20 cmc. sérum anti-diphtérique.
Saignée B à 3 h. 57.
Saignée C à 4 heures (coma complet, défécation, pression très basse).
A 4 h. 10, l'animal se réveille.
Saignée D à 4 h. 40.
B coagule en 20 minutes, C en 35 minutes, D en 15 minutes.
Examen du sang citraté à 1 0/0.
B. — Globulins diminués de moitié. Leucopénie.
C. — 8 à 10 globulins par champ d'immersion 1/12 et quelques petits amas. Leucopénie intense.
D. — Globulins en nombre à peu près normal. Leucocytes présents.

536. — *Chienne*, 20 kilos. Injection le 30 août de 5 cmc. de sérum d'âne sous la peau.
Le 5 octobre, 19 kilos ; à 3 h. 55, injection intra-veineuse de 30 cmc. sérum d'âne. Réaction anaphylactique classique (défécation, coma, baisse de pres-

sion). Saignée A : 3 h. 57. Deuxième saignée B : 5 h. 30, coma persistant. L'animal a succombé dans la nuit.

A. — Non coagulé en 36 heures.

B. — Coagulation en 25 minutes.

Sang citraté à 1 0/0.

A. — 2 à 3 globulins par champ d'immersion 1/12. Leucopénie.

B. — Globulins isolés, mais très diminués (des 3/4).

452. — *Réaction anaphylactique in vivo.*

Chien, 21 kilos : le 15 avril, injection sous-cutanée de 5 cmc. de sérum anti-diphtérique.

Le 12 mai, poids 19 kilos ; à 3 h. 45, injection de 15 cmc. de sérum anti-diphtérique dans la veine, soit 0 cmc. 7 par kilo.

Coma presque immédiat, émission d'urines et de matières fécales. L'animal est saigné immédiatement (A) ; pendant la saignée la pression artérielle tombe à quelques centimètres.

Le coma persiste 45 minutes. Saignée B à 4 h. 50, C à 5 h. 30.

L'animal est sacrifié : vessie vide.

A. — Citrate : globulins diminués de moitié, petits amas de 5 à 6, leucopénie.

B et C. — Citrate : globulins normaux ; leucocytes nombreux.

A (verre) coagule 1 h. 35 ; pas de rétraction, 24 heures.

B (verre) coagule 40 minutes ; rétraction en 24 heures.

C (verre) coagule 30 minutes ; rétraction en 24 heures.

543. — *Chien*, 16 kilos, a subi le 30 août une injection de 5 cmc. de sérum chien chauffé.

Le 11 octobre, à 3 h. 10, injection intra-veineuse de 40 cmc. sérum de chien frais (48 h.). Pas de réaction anaphylactique classique. Abrutissement passager et baisse de pression. Chien normal à 3 h. 25 (détaché).

Saignée à 3 h. 15 ; coagulation en 10 minutes. Dans un échantillon citraté les globulins apparaissent clairsemés, avec quelques petits amas. Leucocytes rares.

528. — *Chien*, 17 kilos. Le 30 août, 15 cmc. de sérum d'âne sous la peau (sérum chauffé à 54-58°).

Le 28 septembre, 16 kilos. Injection intra-veineuse de 25 cmc. de sérum d'âne à 3 h. 17. En deux minutes, réaction anaphylactique complète (défécation, coma, baisse de pression). Saignée à 3 h. 17 (pression très basse).

Le sang n'était pas coagulé au bout de 24 h.

Sang citraté à 1/10 = 1 à 2 globulins par champ d'immersion à 1 1/2 et quelques petits amas ; leucopénie.

L'animal a succombé le lendemain à une deuxième réinjection de 120 cmc.

Mort en 1 heure. Les accidents immédiats ont été les mêmes, mais la disparition des globulins était beaucoup moins complète.

Ces expériences, *in vitro* et *in vivo*, permettent de faire un certain nombre de remarques.

Relativement aux phénomènes anaphylactiques, il est possible de constater avant la réinjection, dans le plasma de l'animal sensibilisé une modification de l'équilibre physico-chimique, que met en évidence une augmentation de l'agglutinabilité des globulins : cette réaction ne paraît pas rigoureusement spécifique (1) et ce fait est d'accord avec les observations d'Arthus *in vivo*, sur la non-spécificité des phénomènes anaphylactiques.

Relativement aux globulins, ces expériences montrent que l'agglutinabilité des globulins, qui varie suivant les espèces animales, est susceptible de variations chez la même espèce dans certaines conditions expérimentales. Elles sont un nouvel exemple du parallélisme, déjà plusieurs fois signalé, entre les deux phénomènes : agglutination des globulins *in vitro* et disparition *in vivo*. Un travail complémentaire s'impose tout naturellement ; c'est de rechercher si les phénomènes inverses ne s'observent pas dans l'état contraire, dans l'immunité ; c'est ce que je me propose de faire.

(1) Ch. Achard et M. Aynaud, Les globulins dans l'anaphylaxie, *C. R. Soc. Biologie*, 10 juillet 1909.

CHAPITRE XII

NUMÉRATION DES GLOBULINS

Un grand nombre de méthodes de numération des globulins ont été proposées ; le nombre même de ces méthodes indique bien leur insuffisance : des hématologistes aussi éminents que W. Turck ont renoncé à dénombrer les plaquettes et se contentent d'une simple appréciation, d'après un examen sur lames sèches.

Afanassiew (1883) procède pour la numération des plaquettes comme pour une numération ordinaire de sang en se servant du liquide de dilution suivant :

Solution de NaCl à 0,6 0/0.	100 cmc.
Peptone sèche	0,6 0/0
Violet de méthyle.	1 p. 20.000

Cet auteur se sert de peptone comme anti-coagulant : nous avons vu par ailleurs que la peptone avait la propriété d'agglutiner les globulins. Afanassiew donne comme résultat des chiffres variant entre 2 et 300.000 : $\frac{R}{Gl}$ (1) variant de 18 à 25 chez l'homme.

Hayem compte ses hématoblastes d'une manière analogue : seul le liquide de dilution varie. Les résultats exposés dans la thèse de son élève Cadet sont les suivants : chiffres variant chez l'individu normal entre 200.000 et 300.000 ; moyenne pour l'homme de 245.000. Chez le chien, Hayem donne comme résultat la moyenne de 267.000. D'après Hayem le rapport des hématoblastes aux globules rouges serait de 1/20.

Les hématoblastes de Hayem sont susceptibles de variations numériques qui en général se font d'une manière rapide et brusque ; les hématoblastes augmentent de nombre à la suite de la

(1) $\frac{R}{Gl}$ par abréviation de $\frac{\text{nombre des globules rouges}}{\text{nombre des globulins.}}$

saignée et des affections aiguës : c'est la crise hématoblastique, précédant la rénovation sanguine. Le jeûne les fait diminuer de nombre : il en est de même des anémies progressives, des cachexies avancées.

Laker propose de faire la numération des plaquettes en deux temps :

1° Numération des globules rouges par la technique ordinaire ;

2° Détermination des plaquettes par rapport aux globules rouges sur une goutte de sang mélangée directement au liquide de dilution sans intermédiaire du mélangeur.

Fusari (1886) compte les plaquettes par rapport aux globules rouges, en se servant du liquide de dilution suivant :

Acide osmique à 1 0/0	1 partie
Eau salée à 0,75 0/0	1 partie
Violet de méthyle	traces

Leur nombre est de 200.000 : elles augmenteraient après la saignée, au cours des anémies non fébriles, de la chlorose. Dans les maladies fébriles, leur chiffre tend à baisser, ainsi qu'à l'approche de la mort.

Chez le chien, Fusari a observé une diminution au début de l'intoxication par l'acide pyrogallique. Il n'a pas observé de relation entre les variations numériques des trois éléments du sang.

Prus (1887) (1) utilise le liquide suivant :

Acide chromique à 0,1 0/0	10 volumes
Acide osmique à 1 0/0	10 »
Acide acétique	1 »

L. Pizzini (1894) pique la peau à travers une goutte d'acide osmique, légèrement teintée par du violet de méthyle ; il compte les plaquettes par rapport aux globules rouges ; au cours des maladies fébriles, on observerait une diminution de nombre en relation avec l'élévation thermique.

Brodie et Russel (1897) proposent le liquide suivant :

Glycérine	25
Alcool	12,50
Eau	62,50
Oxalate d'ammoniaque	1,00
Chlorure de sodium	1,50

(1) D'après une analyse de Smolenski, in *Centralblatt für klinische Medicin*, 1887, p. 469.

Ils n'ont pas obtenu de bons résultats avec le citrate de soude. Ils piquent le doigt à travers une goutte de leur mélange et déterminent le rapport $\frac{R}{Gl}$: ce rapport, d'après leurs moyennes, serait de 8,5.

Van Emden (1898) utilise comme liquide de dilution le liquide de Prus qui hémolyse les globules rouges et se sert du mélangeur Potain : il détermine directement le nombre des plaquettes. Il recommande d'agir *vite*. Chez l'homme, il trouve de 218.000 à 250.000 : il a observé une augmentation de nombre après les infections aiguës (crise hématoblastique de Hayem), au cours des anémies, des cachexies, à la fin de la grossesse; une diminution au cours du paludisme, des anémies graves, des œdèmes.

Determann utilise la méthode de Laker pour calculer $\frac{R}{Gl}$, et pique le doigt à travers une goutte du liquide de Bizzozero : $\frac{R}{Gl}$ (moyenne de 25 sujets sains) est égal à 22. Le nouveau-né a très peu de plaquettes ; la grossesse n'influe pas sur leur nombre : elles augmentent dans les affections chroniques, particulièrement au cours du cancer.

Kemp et Calhoun (1900), en se servant d'eau salée formolée, teintée de violet ou de vert de méthyle, comme liquide de dilution et en déterminant le rapport $\frac{R}{Gl}$, trouvent chez l'homme une moyenne de 778.000, avec comme chiffres extrêmes 961.500 et 730.000. Chez le chien, ils donnent comme chiffre normal 380.000, avec comme chiffres extrêmes 461.000 et 349.000.

Helber (1905), en se servant d'une solution de métaphosphate de soude à 10 0/0, trouve chez l'homme normal de 192.000 à 264.000 plaquettes.

J. H. Pratt (1906), faisant une étude critique des différents procédés de numération des plaquettes, attribue à l'altérabilité et à l'adhésivité de ces éléments la variabilité des résultats obtenus par les différents auteurs ; il incrimine comme cause d'erreur la confusion avec des fragments de globules rouges ; il condamne l'usage de la pipette et de la chambre humide ordinaire.

La méthode de Pratt utilise comme liquide de dilution le liquide de Deetjen :

Métaphosphate de soude	2 gr.
Chlorure de sodium	0 » 9
Eau	100 » 00

et détermine le rapport $\frac{R}{Gl}$. Sur 25 individus, il trouve comme moyenne 469.000 avec comme chiffres extrêmes 725.000 et 226.000.

Tschistowitch (1907) utilise la méthode d'Afanasiew : il observe une diminution à la période d'état de presque toutes les maladies infectieuses, suivie d'augmentation pendant la convalescence.

En présence de l'inconstance des résultats fournis par ces différentes méthodes, quelques auteurs se sont proposés de déterminer sur lames sèches le rapport des plaquettes soit aux globules rouges, soit aux globules blancs. Ils ne sont pas arrivés à des résultats plus sûrs (Rabl, Vallet).

Les résultats numériques obtenus avec ces différentes méthodes sont tellement disparates, les méthodes ont donné des résultats tellement variables dans d'autres mains que celles de leurs auteurs, que l'on peut dire qu'aujourd'hui la numération des hématoblastes-plaquettes est complètement abandonnée ; les formules hématologiques ne concernent que les globules rouges et les globules blancs.

Aucune de ces méthodes ne peut donner de résultats exacts, parce qu'aucune ne tient compte de la principale cause d'altération et de destruction des globulins : le contact des tissus. Les auteurs varient à l'infini leurs liquides conservateurs ou fixateurs ; ils varient la forme des pipettes, des chambres humides, mais tous recueillent le sang d'une manière *quelconque*, et dans ces différents travaux, qui sont presque tous des travaux d'hématologie clinique, il s'agit de sang cutané, par piqûre du doigt. Si l'on veut compter exactement les globulins, la première condition à remplir est d'avoir un sang dans lequel tous ces éléments soient isolés : un sang dont les globulins sont plus ou moins

complètement agglutinés est inutilisable pour les raisons suivantes :

1° L'agglutination indique que le sang a été au contact de la plaie ; il y a pu avoir à ce niveau un nombre de globulins retenus en quantité indéterminée : le sang examiné ne contient pas le même nombre de globulins que le sang contenu dans le vaisseau.

2° L'agglutination peut aller jusqu'à la fusion en une masse unique dans laquelle les éléments ont perdu leur individualité, et ne peuvent par conséquent être dénombrés.

Pour dénombrer les globulins, j'ai opéré sur des échantillons de sang recueillis avec les techniques indiquées dans les chapitres II et III.

Le sang étant recueilli avec tous les globulins qu'il avait à l'intérieur des vaisseaux, il est nécessaire, avant de procéder à la numération, de le diluer ; mais auparavant, deux opérations préliminaires s'imposent :

1° Il faut le *stabiliser*, de manière à éviter toute coagulation et toute agglutination des globulins.

2° Il faut *fixer* les globulins, de manière à ce qu'ils conservent au cours des différentes manipulations un type morphologique constant.

Le sang ainsi stabilisé et fixé ne contiendra pas autre chose que globules rouges, globules blancs, globulins : il n'y aura pas ces corps étrangers (fibrine, débris cutanés, etc.), que l'on a l'habitude de rencontrer dans les numérations de sang cutané par les procédés ordinaires, et qui sont souvent comptés comme hématoblastes ou plaquettes.

La stabilisation du sang découle naturellement de ce que j'ai exposé aux chapitres III et VI sur l'action des citrates et oxalates alcalins et sur le mécanisme de l'agglutination des globulins. Il suffit de citrater ou d'oxalater le sang de manière que, dans le sang après dilution, le citrate et l'oxalate soient à un taux suffisant pour empêcher l'agglutination. Je me suis arrêté à l'emploi du citrate, mais on pourrait obtenir — et je l'ai obtenu — le même résultat avec l'oxalate.

Pour fixer (1) les globulins, j'ai obtenu de bons résultats avec

(1) V. chapitre VIII, p. 117, la fixation des globulins.

l'acide osmique et le formol : je me suis arrêté à l'emploi du formol par raison d'économie.

En opérant sur du sang citraté à 1 0/0, j'utilise les deux liquides suivants :

A. — Eau salée 8 0/00	80	cmc.
Citrate de soude 10 0/0	20	—
B. — Eau salée 8 0/00	80	—
Formol du commerce	20	—

2 cmc. du liquide A sont mis dans un godet paraffiné et on y laisse tomber une goutte de sang citraté manipulé encore dans une pipette paraffinée : on laisse tomber 2 cmc. de la solution B, on agite, et l'on dépose une goutte dans la cellule de l'appareil de Thoma-Zeiss. Le sang est suffisamment stabilisé pour que les globulins ne subissent plus d'agglutination au contact du verre.

Les globules rouges sont bien conservés dans ce mélange.

Les globulins se présentent sous forme de petits disques arrondis, extrêmement pâles : il est nécessaire de diaphragmer fortement (objectif 7). Ils sédimentent lentement, et il faut attendre 20 à 30 minutes pour qu'ils soient tombés au fond de la cellule : on s'exposerait à de grosses erreurs en ne tenant pas compte de ce fait.

On détermine le rapport des globules rouges aux globulins, $\frac{R}{Gl}$, sur 12 à 1.500 globules rouges : avec un peu d'habitude, on arrive très bien à avoir une dilution de sang qui donne ce nombre dans les 16 carrés de la chambre à numération Thoma-Zeiss.

La numération doit porter sur les 16 carrés ; il ne doit pas y avoir de liquide en dehors du disque central de la chambre.

Le nombre des globules rouges est déterminé par les procédés ordinaires : en divisant le nombre des globules rouges par millimètre cube par $\frac{R}{Gl}$, on obtient le nombre des globulins par millimètre cube.

On pourrait également déterminer le nombre des globulins par rapport aux leucocytes en se servant de liquides hémolysants (eau simplement citratée) : on obtient ainsi des figures très impressionnantes : le champ entier des différents carrés est occupé

par des centaines de globulins au milieu desquels apparaissent quelques leucocytes.

Le rapport $\frac{\text{leucocytes}}{\text{globulins}}$ est de l'ordre du centième, tandis que le rapport $\frac{\text{globules rouges}}{\text{globulins}}$ est de l'ordre du dixième. Au point de vue exclusivement mathématique, le second doit donner pour le calcul des globulins des résultats plus exacts, les erreurs étant multipliées par 10 au lieu d'être multipliées par 100.

La difficulté de la méthode consiste à avoir un sang contenant tous les globulins isolés : la chose est facile chez le chien, chez l'âne ; elle l'est déjà un peu moins chez le lapin et le chat ; elle est très difficile chez le cobaye, le rat. *On doit toujours vérifier l'absence d'agglutination dans le sang citraté qui a fourni le matériel de dilution.*

Le tableau suivant expose les résultats que j'ai obtenus sur 19 chiens (sang artériel) :

	R	$\frac{R}{Gl}$	Gl.
366. Chien 12 kilos (galeux)	5.920.000	11,05	535.611
446. Chienne 17 kilos (non gravide)..	7.540.000	18,46	407.451
375. Chien 16 kilos.....	5.400·000	11,18	483.000
371. Chienne gravide 18 kilos (10 fœtus 0m05).....	4.360.000	7,82	505.754
373. Chien 14 kilos.....	5.040.000	10,14	497.040
374. Chien 14 kilos.....	5.070.000	10,66	492.236
402. Chienne 15 kilos (non gravide)..	5.960.000	14,84	401.630
404. Chien 18 kilos.....	5.770.000	11,24	513.340
407. Chien 19 kilos	5.870.000	13,56	447.640
413. Chienne 22 kilos (10 fœtus 1 cm.)	5.090.000	13,94	365.130
417. Chien 19 kilos.....	5.170.000	13,42	381.520
432. Chienne 7 kg. 500 (a mis bas 14 semaines avant).....	5.320.000	13,62	390.602
433. Chien 18 kilos	5.310.000	13,73	386.743
443. Chienne 21 kilos (a mis bas 8 jours plus tard).....	5.110.000	10,97	465.816
534. Chien 18 kilos (3 ans environ)..	6.070.000	17,16	353.735
540. Chien 18 kilos (2 ans).....	5.280.000	11,63	453.998
541. Chien-mouton 14 kilos (5 ans)..	5.060.000	12,61	401.269
504. Chien 13 kilos (dog. mâtiné, 5 ans).....	6.120.000	12,02	509.068
556. Chien 16 kilos 500 (3 ans).....	5.760.000	12,76	466.300

La moyenne pour $\frac{R}{Gl}$, en ne tenant pas compte des deux

chiennes pleines (1), donne 13. Les écarts autour de ce chiffre sont assez élevés, de 10,14 à 18,46. Dans l'interprétation de ces chiffres, il faut tenir compte de l'état physiologique des chiens (chiens de fourrière), des variétés de race, et enfin de l'âge dont je ne me suis pas occupé au début de mes numérations.

$\frac{R}{Gl}$ est plus faible chez le nouveau-né. Sur deux chiens nés au laboratoire, j'ai trouvé les chiffres suivants (2) :

N° 1. 260 gr. 5 h. après la naissance.

$R = 4.210.000 \quad \frac{R}{Gl} = 8,58 \quad Gl = 490.670.$

N° 2. 390 gr. 5 jours après la naissance.

$R = 4.450.000 \quad \frac{R}{Gl} = 8,89 \quad Gl = 500.562.$

Chez le lapin, j'ai pris le sang dans la jugulaire avec une pipette coudée paraffinée, contenant quelques gouttes de citrate à 2 0/0. Dans quelques cas, je me suis servi d'une seringue contenant du citrate. Enfin, j'ai fait des prises dans la carotide avec une aiguille de verre paraffinée et en dirigeant le sang dans un tube paraffiné contenant une proportion déterminée de citrate : j'ai obtenu les résultats suivants :

(1) La gestation paraît diminuer la valeur de $\frac{R}{Gl}$; j'ai constaté le même fait chez le cobaye, mais mes résultats sont encore trop fragmentaires pour me permettre l'étude des variations de $\frac{R}{Gl}$ au cours ou à la suite de la gestation et pendant l'allaitement.

(2) Sang de la jugulaire.

	R	$\frac{R}{Gl}$	Gl.
467. Mâle, 2.140 gr. ..... Carotide Pipette..	4.140.000	9,12	453.940
480 *a*. Mâle, 1.710 gr..... Pipette jugulaire.	4.240.000	7,43	572.139
480 *b*. Femelle, 1.780 gr..... .... Seringue citrate.	4.020.000	6,97	576.757
517. Femelle, 2.080 gr..... Jugulaire pipette.	4.560.000	7,89	578.073
521 *a*. Femelle, 2.500 gr..... Jugulaire seringue.	3.911.000	6,69	584.902
521 *b*. Femelle, 2.400 gr..... Jugulaire pipette.	3.800.000	6,51	568.356
524 *a*. Mâle, 2.200 gr..... Jugulaire seringue.	4.380.000	8,19	536.141
524 *b*. Femelle, 2.450 gr..... Jugulaire, aiguille vaselinée.	5 000.000	9,13	547.645
525. Femelle, 3 700 gr..... ..... Jugulaire pipette.	4.150.000	7,07	586.987
484. Femelle, 3 450 gr..... Jugulaire pipette.	4.760.000	10,00	476.000
570. Femelle, 4.040 gr..... Carotide pipette.	4.620.000	10,89	424.334

La moyenne pour $\frac{R}{Gl}$ est 8,08 : aucune des femelles n'était pleine. Les chiffres les plus forts pour $\frac{R}{Gl}$ ont été trouvés sur des animaux conservés depuis plusieurs mois au laboratoire.

Le rapport $\frac{R}{Gl}$, sur le même individu, donne des valeurs très voisines, si on le comporte dans l'artère et la veine :

Chien, 4 mois, malade : 1.500 grammes.
Pipette. Jugulaire 2,06
Technique ordinaire. Carotide. 2,26

Lapin neuf, mâle : 2.200 grammes.
Seringue citratée. Carotide 8,95
Jugulaire. 8,19
Lapin neuf, femelle : 2.450 grammes.
Aiguille vaselinée. Carotide. 9,58
Jugulaire 9,13
Lapin, saigné, femelle : 2.650 grammes.
Pipette paraffinée. Carotide 10,50
Jugulaire 10,67

Lapin, saignée, mâle : 2.500 grammes.
Pipette paraffinée. Carotide 7,42
Jugulaire 7,34
Lapin neuf, femelle : 4.040 grammes.
Pipette paraffinée. Carotide 11,08
Jugulaire 11,77
Veine porte 12,22
Lapin, mâle : 3.000 grammes.
Pipette paraffinée. Carotide 10,89
Veine cave inférieure 10,02

Au cours d'une saignée copieuse, le rapport $\frac{R}{Gl}$ diminue, c'est-à-dire qu'il y a plus de globulins par rapport aux globules rouges, à la fin qu'au commencement de la saignée :

640. — *Chien*, 18 kilos.
Anesthésie au chloral-morphine.
Sang de la fémorale.

Saignée avant anesthésie . . . . . $\frac{R}{Gl} = 11,63$

Saignée après l'anesthésie : 500 cmc., l'animal a succombé deux minutes après la fin de la saignée.

Les 50 premiers cmc . . . . . $\frac{R}{Gl} = 13,1$
Les 50 derniers cmc . . . . . » $= 10,69$

555. — *Chien*, 18 kil. 500.
Anesthésie chloral-morphine à 3 h. 30.
Saignée A de 450 cmc. à 3 h. 35 (fémorale).
Saignée B à 4 h. 45 (carotide).

A. — 50 premiers cmc . . . . . $\frac{R}{Gl} = 17,61$
50 derniers cmc . . . . . » $= 14,91$

B. — — — . . . . . » $= 15,92$

424. — *Lapin*, 2.450 grammes.
Sang de la carotide.
Les 10 premiers cmc . . . . . » $= 9,58$
20 cmc. perdus.
Les 10 derniers cmc . . . . . » $= 9,03$

Sur les chiens anesthésiés, j'ai trouvé dans les expériences

suivantes des chiffres plus faibles que chez les animaux non anesthésiés.

	R	$\frac{R}{Gl}$	Gl
548. — *Chien*, 1 an, 12 kilos.			
Chloroforme en inhalation, 5 minutes .	5.910.000	15,86	372.635
560. — *Chien*, 1 an, 19 kilos.			
Ether en inhalation, 10 minutes.	5.850.000	15,53	376.622
555. — *Chien*, 1 an, 18 kil.			
Injection intrapéritonéale de 45 cmc. chloral-morphine : saignée au bout de 10 minutes.	5.730.000	17,61	325.567
567. — *Chien*, 1 an, 18 kil. 500.			
Injection intrapéritonéale de 45 cmc., chloral-morphine : saignée au bout de 25 minutes	5.160.000	16,1	320.496
569. — *Chien*, 3 ans, 22 kilos.			
Injection intrapéritonéale de 60 cmc., chloral-morphine : saignée au bout de 45 minutes.	5.940.000	18,62	319.011

L'asphyxie, dans l'expérience suivante, n'a pas modifié sensiblement $\frac{R}{Gl}$:

527. — *Chien*, 2.500 grammes. Prise de sang dans l'une des carotides, $\frac{R}{Gl} = 4{,}53$ (il s'agit d'un animal malade). Une pince à forcipressure est mise sur la trachée : des prises de sang sont faites sur l'autre carotide, en pleine asphyxie, au bout de 2 minutes 30 et 3 minutes 15.

$\frac{R}{Gl}$ — 2 minutes 30 = 4,44.

» 3 — 15 = 4,45.

Le sang était noir : il y avait une leucocytose manifeste.

Le jeûne entraîne toujours une diminution très marquée du nombre des globulins : la diminution en est plus lente à se produire chez le lapin, qui meurt quelquefois avec l'estomac à moitié plein : dans les expériences suivantes, les chiens étaient au jeûne avec de l'eau tandis que les lapins étaient au jeûne

absolu. Les examens concernent la jugulaire (lapins), l'artère fémorale (chiens).

Nos	DURÉE	PERTE DE POIDS	R	Bl	$\frac{R}{Gl}$	Gl.
			Lapins.			
535. 6. Mâle.....	7 jours.	2575 — 1860	5.810.000	»	20,52	283.138
554. 1. Femelle, non gravide.....	6 »	»	4.060.000	»	14,96	271.390
554. 2. Mâle.....	9 »	2570 — 1710	5.690.000	»	13,97	407.308
578. Femelle, non gravide, a eu de l'eau.....	9 »	2520 — 1500	5.980.000	»	22,55	265.188
			Chiens.			
411. Mâle, 13 kilos	50 heures.	»	5.340.000	»	28,35	188.007
424. Mâle, 18 kilos	136 »	»	4.440.900	6.400	22,83	194.480
428. Mâle.....	9 jours.	15 — 10	4 480.000	»	24,32	184.210
439. Mâle.....	10 »	15 — 11	5.920.000	3.200	27,34	216.532

*
* *

A la suite de la saignée, et en dehors de toute complication septique, je n'ai pas constaté d'augmentation numérique. Les saignées étaient pratiquées à l'une des veines de l'oreille, l'animal étant suspendu par les pattes de derrière : la région était rasée et aseptisée avant l'incision, et cautérisée au fer rouge ensuite. Les résultats sont tout autres avec des plaies infectées. J'ai fait l'autopsie de tous les animaux et constaté qu'il y avait pas d'autre cause (coccidiose, gestation) de modification du nombre des globulins. Voici les chiffres que j'ai trouvés sur 8 lapins, de 2 à 11 jours après la saignée.

	PERTE DE SANG	TEMPS	R	$\frac{R}{Gl}$	Gl
1. Mâle, 2.000 gr. (Jugulaire pipette.....	40 cmc.	54 heures.	4.030.000	7,59	530.940
2. Mâle, 2.175 gr. (Jugulaire pipette).....	40 cmc.	4 jours.	4.080.000	5,98	682.274
3. Mâle, 2.200 gr. (Jugulaire pipette).....	40 cmc.	8 jours.	4.540.000	8,17	555.691
4. Femelle, 2.270 gr. (non gravide, seringue jugulaire).....	40 cmc.	11 jours.	4.660.000	7,36	633.153
5. Femelle, 2.450 gr. (non gravide, carotide).....	45 cmc.	2 jours.	4.080.000	9,16	445.914
6. Femelle, 2.650 gr. (non gravide, jugulaire pipette)	45 cmc.	5 jours.	4.211.000	10,67	394.657
7. Mâle, 2.500 gr. (Jugulaire pipette);.....	45 cmc.	7 jours.	3.330.000	7,42	447.318
8. Mâle, 2 450 gr. (Carotide)	45 cmc.	10 jours.	3.660.000	9,28	394.396

A la suite de saignées répétées, $\frac{R}{Gl}$ baisse, mais jusqu'ici je n'ai point encore observé, même dans ce cas, une augmentation numérique absolue et appréciable des globulins. Les globulins se régénèrent plus vite que les globules rouges.

Trois lapins sont soumis aux saignées suivantes :

4 août	10 cmc.
6 —	18 —
9 —	5 —
12 —	15 —
14 —	15 —
17 —	20 —
20 —	20 —
25 —	5 —
28 —	10 —
30 —	5 —
	123 cmc.

Sang de la jugulaire.

N° 1.	Mâle	2.040 gr.	31 août. .	3.350.000	5,91	566.835
N° 2.	—	2.350 »	4 sept. .	3.560.000	8,92	399.103
N° 3.	Femelle, non gravide	2.120 »	7 »	4.310.000	6,26	688 498

Quatre lapins sont soumis aux saignées suivantes :

2 octobre.	. . . . .	40 cmc.
4 —	. . . . .	45 —
6 —	. . . . .	20 —
9 —	. . . . .	30 —
11 —	. . . . .	30 —
15 —	. . . . .	10 —
		175 cmc.

L'un d'eux a succombé avec de la diarrhée le 14 octobre.

Les examens portent sur le sang carotidien.

N° 1.	Femelle non gravide	2.200	gr.	16 octobre.	2.450.000	6,16	397.743
N° 2.	— —	2.500	»	19 —	3.260.000	5,43	600.368
N° 3.	Mâle —	2.230	»	23 —	2.540.000	5,53	459.330

Diarrhée légère.

Je n'ai fait que des observations beaucoup plus limitées sur les autres espèces animales.

Sur deux chats, après anesthésie au chloroforme, j'ai trouvé pour $\frac{R}{Gl}$ 12,47 et 15,41.

Sur une brebis de 2 ans, pleine, en assez mauvais état, j'ai obtenu (sang de l'artère fémorale) :

$$R = 4.560.000 \quad \frac{R}{Gl} = 7,44 \quad Gl = 612.903.$$

Sur un âne, coupé, en stabulation au laboratoire depuis plusieurs années, ayant reçu l'année précédente des injections de toxines tuberculeuses, j'ai trouvé (sang de la jugulaire) :

$$R = 4.690.000 \quad \frac{R}{Gl} = 10,61 \quad Gl = 460.895.$$

Sur le cobaye (cobayes mâles), j'ai obtenu les chiffres suivants (jugulaire) : on remarquera que $\frac{R}{Gl}$ est d'autant plus faible qu'il s'agit d'animaux plus jeunes :

Poids.	R	$\frac{R}{Gl}$	Gl
180 grammes.	3.490.000	5,9	591.542
320 »	3.795.000	7,4	512.837
495 »	5.610.000	9,83	570.702
570 »	»	9,66	
560 »	»	9,37	

Sur 4 jeunes rats blancs bâtardés de 12 à 34 grammes, j'ai trouvé des chiffres variant de 5,86 à 6,45 pour $\frac{R}{Gl}$

Sur de jeunes rats blancs nouveau-nés (1), j'ai trouvé $\frac{R}{Gl}$ très bas.

Dans une nichée, née du 25 au 26 août, j'ai trouvé :

N° 1. le 26 août — $\frac{R}{Gl} = 3,10.$
N° 2. le 30 » — (14 gr.) » $= 4,18.$
N° 3. 4 septembre » $= 5,65.$

Sur d'autres jeunes trouvés dans l'élevage, j'ai trouvé les nombres suivants chez des sujets du poids de :

10 gr. $\frac{R}{Gl} = 4,18.$
10 gr. » $= 3,13.$
6 gr. 50 » $= 4,12.$
6 gr. » $= 3,60.$

On voit, qu'en ce qui concerne le rat, le chien, cobaye, chez le jeune, les globulins sont *relativement* plus nombreux que les globules rouges.

Les globulins sont susceptibles de variations — extrêmement étendues — au cours d'infections et d'intoxications diverses. Je me bornerai à exposer les résultats obtenus au cours de différents trypanosomiases et de la piroplasmose canine (2).

(1) Section du cou dans le citrate, possible en l'absence de poils. Il s'agit d'un mélange de sang carotidien et jugulaire et non de sang cutané. La méthode ne donne que des résultats approchés, et des chiffres de globulins plutôt faibles.

(2) J'adresse tous mes remerciements à MM. Bouffard, Mesnil et Nattan-Larrier qui ont mis à ma disposition ces différents virus.

	DATE DE L'INFECTION	PARASITES	R	Bl.	$\frac{R}{Gl}$	Gl.
Infections à Trypan. equinum.						
Chien n° 4.....	32e jour.	12.600	3.600.000	20.000	35,83	100.430
Le même (mourant).	40e jour.	75.000	1.500.000	16.000	»	Extrêmement rares.
Chienne n° 17, non gravide, 22 kilos (lésions oculaires) ...	58e jour.	10.000	3.777.000	22.400	28,33	133.221
Rat blanc, n° 16, 150 gr. (jugulaire). ...	5e jour.	800.000	5.440 000	3.200	39,5	137.720
Lapin n° 5 : dyspnée cachectique, lésions oculaires, (jugulaire)	28e jour.	Examen histologique négatif.	3.360.000	13.600	4,72	711.860
Lapin n° 26, 2.400 gr. cachectique, lésions oculaires et génitales, (carotide)	31e jour.	id.	3.900.000	2.400	5,56	701.439
Infections à Trypan. Brucei.						
Chien n° 3, 10 kilos.	4e jour.	10.000	4.260.000	6.400	61,8	68.990
Chien n° 8, 21 kilos.	5e jour.	10.000	2.400.000	11.200	49,92	48.070
Chien n° 13, 17 kilos.	17e jour.	20.000	4.700.000	3.200	»	Très rares
Chien n° 14, 18 kilos.	19e jour.	25.000	3.450.000	3.600	358,00	9.320
Chien n° 21, 14 kilos.	8e jour. (mourant)	240.000	5.120.000	24.800	157,00	32.610
Rat blanc, n° 7 (jugulaire)	4e jour.	1.760.000	3.280.000	3.808	55,07	59.636
Rat blanc, n° 9 (jugulaire).....	6e jour.	870.000	4.080.000	8.000	»	Très rares
Lapin n° 4, 2.380 gr. (jugulaire).....	30e jour.	Absents.	3.180.000	6.000	5,91	538 070
Lapin n° 12, 2.100 gr. (jugulaire).....	32e jour.	Rarissimes.	3.590.000	26.000	4,99	719.430
Lapin n° 22, 1.810 gr. (jugulaire)	48e jour.	10.000	3.910.000	10.000	8,57	456.359
Lapin n° 27, 2.780 gr. (jugulaire).....	44e jour.	Absents.	3.910.000	6.400	3,38	1.156.804
Lapin n° 31 (jugulaire)	26e jour.	Absents.	3.220.000	1.600	3,74	860.962

J'ai étudié les infections à *Trypan Pecaudi*, *Trypan. Gambiense*, *Trypan. Brucei*, *Trypan. équinum*. Les tableaux ci-joints

	DATE DE L'INFECTION	PARASITES	R	Bl	$\frac{R}{Gl}$	Gl.
Infections à Trypan. Gambiense.						
Rat blanc n° 1 (jugulaire)	15e jour.	400.000	2.740.000	4.000	34,61	79.160
Rat blanc n° 4 (jugulaire.)	16e jour.	700.000	3.810.000	7.200	30,6	121.240
Rat blanc n° 7 (jugulaire)	21e jour.	120.000	4.300.000	2.800	19,9	216.080
Rat blanc n° 8 (jugulaire)	21e jour.	800 000	3.650.000	6.400	33,79	109.642
Chien n° 12, 10 kilos.	46e jour.	5 à 6 trypans par préparation de plasma en goutte pendante.	2.430.000	14.400	32,02	75.886
Lapin n° 10, 1.920 gr.	53e jour.	Absents.	1.460.000	8.000	0,868	1.682.027
Infections à Trypan. Pecaudi.						
Chien n° 26, 4 kilos.	8e jour.	240 000	4.290.000	12.800	151,00	28.410
Chien n° 7, 24 kilos	7e jour.	100.000	6.460.000	5.600	92,18	65.800
Chien n° 18, 16 kilos.	6e jour.	140.000	3.830.000	8.000	63,27	66.530
Chien n° 21, 21 kilos.	5e jour.	41.000	5.810.000	8.000	141,00	41.200
Rat bâtard n° 28, 105 gr.	6e jour.	300.000	2.791.000	1.600	42,5	65.000
Rat bâtard n° 29, 130 gr.	7e jour.	200.000	4.760.000	8.800	36,05	137.000
Lapin n° 32, 2.150 gr.	21e jour.	74.000	2.380.000	7.200	106,00	21.698
Cobaye n° 10.	43e jour.	Nombreux	2.800.000	6.400	19,31	171.180
Cobaye n° 23.	46e jour.	220.000	2.960.000	2.400	28,34	104.440
Cobaye n° 31.	33e jour.	200.000	3.210.000	7.200	18,4	174.456
Infections à Piroplasmes (Virus de Cambridge).						
Chien n° 1, 7 kilos..	5e jour.	Moitié des globules parasités.	2.580.000	12.800	144,00	17.910
Chien n° 2, 5 kilos..	id.	Parasites peu nombreux.	635.000	16.000	33,53	18.930
Chien n° 4, 10 kilos..	id.	8 à 10 parasites par chaque $\frac{1}{12}$.	3.270.000	3.200	50,81	64.357
Chien n° 5, 10 kilos..	id.	id.	4.700.000	12.800	144,00	32.6 3

mettent bien évidence la diminution rapide et extrêmement marquée des globulins chez les animaux à sang très riche en parasites (chiens et rats) ; chez le lapin, les trypanosomes amènent une cachexie progressive avec lésions suppuratives et ulcéreuses des muqueuses : les parasites sont absents ou rares dans le sang qu'ils envahissent seulement les derniers jours de l'existence. Chez ces animaux, avant la pullulation des parasites, les globulins sont très augmentés de nombre et chez un lapin infecté par *trypan. Gambiense*, le rapport $\frac{R}{Gl}$ était plus petit que 1 : il y avait plus de globulins que de globules rouges, 1.682.027 contre 1.460.000. La piroplasmose canine s'accompagne également et de pullulation des parasites et de diminution des globulins.

Les différents résultats que je viens d'exposer montrent que la numération des globulins est possible (1). Chez un même sujet, elle donne des chiffres extrêmement voisins en comparant le sang de deux vaisseaux différents.

L'âge du sujet est important à considérer : il y a relativement plus de globulins chez le nouveau-né et le jeune que chez l'adulte ou le sujet âgé (2).

Les conditions d'alimentation influent sur le nombre des globulins : le jeûne entraîne une diminution considérable.

Les conditions mécaniques, l'anesthésie n'entraînent que des variations minimes : sous leur action $\frac{R}{Gl}$ varie de quelques unités ; le nombre des globulins est donc relativement stable dans ces conditions et on n'observe pas les variations énormes ($\frac{R}{Gl}$ = 1/400 ou 1/500), que l'on constate après injection intra-veineuse de substances colloïdales.

(1) Chez l'homme, on peut arriver à des résultats exacts, chez les sujets à système veineux développé et apparent. Prise de sang avec une seringue contenant une solution citratée et munie d'une grosse aiguille.

(2) Chez le fœtus, dans quelques observations, j'ai trouvé $\frac{R}{Gl}$ très faible, plus encore que chez le nouveau-né.

La diminution observée dans les trypanosomiases, diminution considérable, me paraît être une diminution par destruction : les globulins des animaux trypanosomiés sont très fragiles, très agglutinables et n'ont qu'une survie extrêmement limitée *in vitro*. Cette diminution des globulins est en rapport avec le nombre des parasites en circulation. Les affections où il n'y a pas ou peu de parasites dans le sang (syphilis chez l'homme, coccidiose chez le lapin, infections microbiennes) ne s'accompagnent pas de diminution des globulins.

Il m'a été impossible, jusqu'à l'heure actuelle, de trouver un rapport constant entre les variations des globulins d'une part, des globules rouges ou blancs d'autre part ; le globulin s'est comporté comme un élément indépendant.

CHAPITRE XIII

GLOBULINS ET COAGULATION

Dans le sang extrait des vaisseaux sans précautions spéciales, les globulins disparaissent bien avant la coagulation fibrineuse proprement dite. Ce fait, absolument exact, facile à constater, a fortement impressionné un grand nombre d'auteurs qui ont voulu faire du premier la condition du second, ou bien ont rattaché certaines modalités de la coagulation (rétraction du caillot) à l'action des globulins.

Hayem a décrit sous le nom d'hématoblastes des éléments dont une partie au moins, ceux qui sont dépourvus de coloration hémoglobique, correspondent à des globulins en voie d'altération rapide. Les hématoblastes de Hayem, examinés avec la technique de cet auteur entre lame et lamelle, sur du sang recueilli au contact des tissus, forment presque instantanément des masses granuleuses où ils perdent toute individualité. Hayem admet que les hématoblastes fournissent une partie de la fibrine (fibrine hématoblastique).

Hayem fait des hématoblastes les agents de la rétraction du caillot ; cette conception est basée sur un certain nombre de constatations cliniques telles que la diminution des hématoblastes au cours d'affections s'accompagnant d'irrétractilité du caillot. Les arguments tirés de la numération des globulins sur du sang cutané, souillé par le contact des tissus, ont une valeur nulle (Voir chapitre XII). De plus, au cours de la pneumonie, affection dans laquelle les hématoblastes seraient augmentés de nombre, il y a absence de rétraction du caillot : et dans ce cas, Hayem invoque une altération spéciale des hématoblastes, qui reste encore à démontrer.

Hayem fait jouer un rôle important aux hématoblastes dans la coagulation intra vasculaire. Il admet la possibilité de concré-

tions sanguines circulant à l'intérieur des vaisseaux, dans certaines conditions pathologiques ou expérimentales, principalement constituées par des amas d'hématoblastes et de globules rouges fusionnés.

Pour ma part, je n'ai pu me convaincre de la préexistence de pareilles concrétions, qui, d'après Hayem, seraient capables de déterminer par leur volume des accidents d'oblitération vasculaire.

Bizzozero est beaucoup plus affirmatif que Hayem sur le rôle de ses plaquettes dans la coagulation. Lorsqu'on bat du sang avec des brins de fil, il se dépose à la surface des fils de grandes quantités de plaquettes altérées, englobant d'ailleurs toujours un certain nombre de globules rouges et de globules blancs. Ces brins de fil ont la propriété de faire coaguler des liquides fibrinoplastiques. Comme le fait remarquer très justement Hayem, l'expérience n'est pas très démonstrative, les globules blancs pouvant jouer un rôle important dans la coagulation. Bizzozero invoque en outre, en faveur de sa thèse, le fait que les liquides conservateurs des plaquettes seraient également anti-coagulants parce qu'ils empêcheraient la mise en liberté du fibrin-ferment par altération de ces éléments : mais j'ai déjà montré que les liquides anti-coagulants n'étaient pas tous conservateurs des globulins, et qu'il n'y avait pas parallélisme entre le pouvoir anti-coagulant d'un liquide et son rôle conservateur ou destructeur à l'égard des globulins (chap. III).

Eberth et Schimmelbusch dans leur ouvrage sur la thrombose (1888) soutiennent des idées absolument opposées à celles de Bizzozero et de Hayem. Pour eux, la destruction des plaquettes et la coagulation sont deux phénomènes qui coïncident souvent, qui présentent un certain parallélisme, mais il n'y a pas de relation causale entre eux. Ces auteurs ont pu, douze heures après la mort, retrouver des plaquettes dans les caillots vasculaires. Ils ont fait de très nombreuses et très remarquables observations sur la thrombose et la coagulation chez les mammifères vivants dont ils étudiaient la circulation péritonéale au microscope. Ils ont nettement vu, et représenté, la réunion en amas, l'agglutination

des plaquettes dans les vaisseaux, sans coagulation fibrineuse, les globules rouges poursuivant leur cours. Ils ont bien vu que ces amas de plaquettes pouvaient retenir dans certains cas des leucocytes. Ces observations constituent un exemple indiscutable de la dissociation des deux temps de la coagulation, sur le vivant.

Petrone (1897) admet que les agents anti-coagulants sont destructeurs des plaquettes et que la destruction de ces dernières met en liberté des substances anti-coagulantes.

Spangaro (1899) met en évidence le rôle des tissus sur la coagulation du sang et la rétraction du caillot. Relativement aux plaquettes, ses conclusions sont les suivantes : « Dans le sang extrait, soit de mammifères, soit d'oiseaux, il se produit une altération plus manifeste des plaquettes et une diminution progressive de leur nombre. A l'approche de la coagulation, les plaquettes acquièrent une tendance à s'unir et à subir ensuite une désagrégation granulaire. Dans le sang qui a été en contact direct avec les tissus, on observe les mêmes modifications de forme et de disposition des éléments, mais elles se produisent d'une manière très rapide. »

Fil. Botazzi, Ducceschi, Loeb étudient la morphologie comparée de la coagulation dans la série animale et distinguent nettement les deux temps de la coagulation. On savait déjà par les recherches de Geddes, L. Fredericq (1879-1880), Cattaneo (1888), L. Cuénot (1891), Hardy (1891) que chez les invertébrés, les arthropodes mis à part, l'hémolymphe extraite du corps ne coagule pas en masse à la manière du sang des vertébrés : on voit se former rapidement dans ce liquide de petits grumeaux, formés de leucocytes fusionnés ensemble, *syncitiums ou plasmodes* suivant les auteurs ; chez les vertébrés il se passe un phénomène analogue ; chez les ovipares, des éléments nucléés désignés sous le nom de plaquettes et qui sont en réalité des leucocytes, s'agglutinent entre eux ; chez les mammifères, les plasmodes sont essentiellement constitués par des globulins très altérés. Ce phénomène de l'agglutination des éléments figurés du sang extrait est un phénomène absolument général ; c'est ce que les auteurs

appellent le premier temps de la coagulation ; il correspond à la thrombose d'Eberth et Schimmelbusch : le terme d'agglutination me paraît préférable, parce qu'il ne préjuge rien de la nature intime du phénomène ni de ses relations possibles avec le deuxième temps. Le phénomène, en ce qui concerne les mammifères, n'est pas rigoureusement limité à la seule agglutination des globulins : il y a toujours un certain nombre de leucocytes englobés dans les amas. Je fais les plus expresses réserves sur la tendance qu'ont un certain nombre d'auteurs à vouloir confondre sous la même étiquette tous les éléments qui sont agglutinés dans le premier temps de la coagulation, et à désigner sous le même terme de *thrombocyte* des éléments aussi différents que le globulin des mammifères, la plaquette nucléée des ovipares, et certains leucocytes de l'hémolymphe des invertébrés.

Loeb, dans une série de mémoires fort intéressants, essaie de démontrer l'indépendance des deux temps de la coagulation. Il a montré que chez l'oie, en traumatisant les veines après injection d'extrait de sangsue, on pouvait obtenir des thrombus (amas de plaquettes nucléées et de leucocytes, sans fibrine) ; chez le chien, il n'a obtenu que des résultats beaucoup moins probants et plus inconstants ; il n'en a pas moins eu le mérite de montrer, après Eberth et Schimmelbusch (1), qu'on pouvait obtenir des thrombus sans coagulation fibrineuse proprement dite.

Dans une série de notes à la Société de Biologie, dans deux mémoires du *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, Le Sourd et Pagniez ont repris l'ancienne hypothèse de Hayem sur le rôle des hématoblastes ou plaquettes dans la rétraction du caillot (1907-1909).

Ils admettent d'abord la nécessité de la présence d'éléments figurés, le plasma filtré à 0° ne rétractant pas. Je ferai remarquer que le sang d'oiseau, qui contient des éléments figurés, ne rétracte pas (2), qu'il en est de même de l'hémolymphe des crus-

(1) La thèse de Schimmelbusch (1886) est consacrée à la thombose dans les sangs incoagulables : cet auteur a pu produire et observer sur le vivant des thromboses (agglutination de plaquettes) au cours de l'incoagulabilité peptonique chez le chien.

(2) Lorsqu'il a été recueilli en dehors du contact des tissus (Spangaro et

tacés. Ceci, pour montrer que la rétraction n'est pas un phénomène constant dans la série animale et que la présence d'éléments figurés ne suffit pas à le produire.

Le Sourd et Pagniez admettent avec Hayem que les caillots des liquides dépourvus d'hématoblastes (lymphe et sérosités pathologiques) « ne sont pas sensiblement rétractiles ». Je ne chercherai pas à approfondir à quel degré de rétractilité correspond le terme sensiblement. La lymphe coagule plus lentement que le sang et son caillot rétracte légèrement. « Le caillot est moins abondant et moins rétractile que celui du sang » (Morat et Doyon, *Traité de Physiologie*). J'ai vu le chyle du chien coaguler et rétracter ; j'ai vu des liquides de pleurésie coaguler en masse et rétracter. Je me suis assuré, par les procédés les plus variés, que ces liquides, conformément à la règle générale, ne contenaient pas un seul globulin. De tout ceci, je me crois en droit de conclure que des liquides exempts de globulins sont capables d'un « certain » degré de rétraction.

A l'appui de la théorie de Hayem, Le Sourd et Pagniez ont apporté un certain nombre d'expériences nouvelles, basées sur l'action des hématoblastes isolés par leur méthode et de leur sérum anti-hématoblastique : ces auteurs se sont servi comme animaux d'expérience du cobaye et du lapin.

Les constatations de Le Sourd et Pagniez sont de deux ordres : 1° action rétractante des hématoblastes-plaquettes *in vitro* ; 2° action anti-rétractante d'un sérum anti-hématoblastique *in vivo*.

Le Sourd et Pagniez ont vu que leurs hématoblastes ajoutés à du plasma oxalaté ou à du liquide d'hydrocèle faisaient coaguler et rétracter. Ils sont donc à la fois coagulants et rétractants. Le chauffage à 50° leur fait perdre leur propriété rétractante. Pour Le Sourd et Pagniez, la propriété rétractante est fonction de plaquettes « *intactes* ». J'ai déjà insisté assez précédemment sur la conception spéciale que j'avais de l'intégrité des plaquettes pour ne pas avoir besoin d'y revenir.

Delezenne. Recherches personnelles). Delezenne avait également, bien avant Arthus et Chapiro, montré le rôle rétractant des tissus (1897).

En injectant du sérum anti-hématoblastique à un lapin, Le Sourd et Pagniez font disparaître les hématoblastes de la circulation : la disparition commence au bout de cinq minutes et persiste 36 heures. Le Sourd et Pagniez font remarquer, dans leur mémoire, que cette injection n'est suivie ni de polypnée ni d'agitation ni de myosis : il serait donc possible, d'après ces auteurs, de détruire les hématoblastes sans entraîner aucun phénomène morbide. La destruction d'éléments aussi nombreux que les hématoblastes (600 000 par mmc. chez le lapin) pourrait se faire sans dommage aucun pour l'organisme, et ne se traduirait que par un seul phénomène, qui n'est pas un trouble morbide ni même fonctionnel, puisqu'on ne l'observe que sur du sang sorti de l'organisme et recueilli dans certaines conditions, l'irrétractilité du caillot.

In vitro le sérum anti-hématoblastique est également antirétractant pour un sang neuf ; il y a donc parallélisme absolu entre l'action *in vitro* et *in vivo*.

Arthus et Chapiro (mai 1908) ont, dans un travail des *Archives Internationales de Physiologie*, adopté les conclusions de Le Sourd et Pagniez. D'après Arthus et Chapiro, ce seraient les hématoblastes vivants qui auraient la propriété de déterminer la rétraction.

Arthus et Chapiro admettent que les globulins se conservent dans la paraffine, qu'ils meurent quand on les refroidit, qu'ils sont conservés par l'oxalate, tués par le fluorure, Ils admettent de plus, que si le sang oxalaté coagule et rétracte par adjonction de sérum ordinaire, c'est parce qu'il contient des hématoblastes vivants ; dans les mêmes conditions, le sang fluoré ne rétracte pas, parce que les globulins sont morts. Le sang dans la paraffine ne rétracte pas, parce que le contact de la paraffine n'exciterait pas les hématoblastes à produire une substance rétractante (1).

Il est regrettable que ces auteurs n'aient pas, dans leurs expé-

(1) J'ai constaté, même dans la paraffine, la rétraction d'un certain nombre de sangs très coagulables : la variabilité de la rétraction suivant le contact (verre ou paraffine) montre bien la contingence de ce phénomène.

riences indiqué les caractères des hématoblastes vivants et qu'ils admettent, sans le démontrer, que les hématoblastes se conservent dans la paraffine, meurent quand on les refroidit, sont conservés par l'oxalate, détruits par le fluorure. Dans ces conditions, il est difficile d'interpréter leurs expériences.

C. Sacerdotti (novembre 1908), dans un important travail sur les plaquettes, étudie l'action du sérum anti-plaquettes sur la coagulation et la rétraction : une heure après l'injection de sérum anti-plaquettes chez le chien, l'absence des plaquettes persistant, il a vu le sang coaguler et rétracter ; il a vu d'autre part, après injection de sérums hétérogènes ou de sérums anti-sérum ou anti-plasma, la rétraction manquer malgré l'abondance des plaquettes ; dans ces conditions, cet auteur admet que la rétraction a une origine différente ou plus complexe que celle qu'admettent Le Sourd et Pagniez.

J'ai insisté un peu longuement sur ces différents travaux, parce qu'à l'heure actuelle, le rôle rétractant des hématoblastes est signalé dans les quelques ouvrages et manuels classiques, qui font mention des globulins ; la rétractilité du caillot résume la physiologie du globulin ; je crois, quant à moi, que nous ignorons à l'heure actuelle tout de la physiologie du globulin, mais je pense, que si le globulin joue un rôle dans l'organisme ce rôle ne doit pas commencer au moment où le sang est extrait des vaisseaux et placé dans un tube de verre ; la rétraction ne s'observe pas dans l'organisme, qu'il s'agisse d'hémorragies cavitaires ou interstitielles ; elle représente un phénomène purement artificiel, ne se produisant qu'*in vitro*.

Je n'ai pas repris les expériences des différents auteurs sur le rôle des plaquettes dans la coagulation : je n'ai pas non plus entrepris de recherches systématiques sur ce sujet, mais au cours des recherches effectuées en vue de ce travail, j'ai fait un certain nombre de constatations que je vais brièvement résumer avant d'en tirer quelques conclusions.

1° **Destinée des globulins dans la coagulation.** — Tout le monde connaît et a répété l'observation classique qui consiste à prendre une goutte de sang au doigt et à l'examiner entre lame

et lamelle : bien avant que les filaments de fibrine apparaissent, les globulins ont déjà disparu. Dans les mers plasmatiques, on ne voit plus, en dehors des leucocytes, que des masses granuleuses, irrégulières, émettant de fins prolongements, quelquefois très longs ; lorsque les premiers filaments de fibrine apparaissent, il semble qu'ils prennent bien leur origine au niveau de ces masses, qu'ils n'en soient qu'une expansion. Ces constatations ont fortement impressionné la plupart des auteurs, qui ont voulu voir dans cette destruction des globulins un phénomène nécessaire de la coagulation, et qui ont supposé que cette destruction des globulins mettait en liberté des substances coagulantes. Nous avons vu qu'Eberth et Schimmelbusch ne voyaient dans cette succession de phénomènes que des coïncidences, et n'admettaient pas la subordination de la coagulation à la destruction des plaquettes. Mes expériences me permettent de confirmer absolument les vues de ces auteurs. Prenons une goutte de plasma d'âne débarrassé de la plus grande partie de ses globules rouges par une sédimentation de quatre ou cinq minutes. Plaçons-la en goutte pendante sous une lamelle vaselinée, et examinons-la à la température du laboratoire (20 à 30°) ; au bout d'un certain temps (30 minutes à 1 heure), les globulins vont s'immobiliser et prendre une forme arrondie, puis en remuant la préparation, on s'apercevra, à un certain moment, que le plasma est coagulé et qu'il est impossible de mobiliser les globulins et les globules blancs. La goutte est prise en gelée : au microscope, les globulins sont absolument isolés les uns des autres ; on aperçoit de très fins filaments de fibrine ; *ces filaments sont absolument indépendants des globulins, qui sont disposés au hasard dans les mailles du réseau et ne forment nullement des points de départ ou d'attache des filaments fibrineux.* Donc, à condition d'éviter les causes de destruction des globulins (action des tissus et du verre), on peut observer la coagulation en dehors de toute destruction des globulins.

2° **Les globulins dans les sangs incoagulables in vitro.** — Plusieurs auteurs ont invoqué, en faveur de leur théorie sur la participation des plaquettes à la coagulation, le parallélisme qu'il y aurait entre la conservation des plaquettes et le retard de la

coagulation : les agents anti-coagulants seraient conservateurs des plaquettes. Petrone a d'ailleurs invoqué en faveur de la théorie inverse, et avec autant de vraisemblance, un parallélisme inverse.

Un certain nombre d'agents anti-coagulants, dans des conditions que j'ai précisées antérieurement, permettent la survie des globulins : le citrate et l'oxalate de soude, par exemple. Le fluorure de sodium au contraire est un poison violent pour ces éléments ; l'extrait de sangsue tue les globulins et les agglutine comme tous les extraits de tissus.

Si maintenant nous considérons les agents physiques, le froid (0°) tue les globulins et suspend la coagulation ; la chaleur, (45°-50°) active la coagulation et tue également les globulins.

On voit donc que le parallèlisme entre conservation des globulins et retard de la coagulation n'existe pas, qu'il n'y a aucun rapport entre ces deux phénomènes.

3° **Les globulins dans les sangs incoagulables in vivo.** — Nous avons vu qu'après injection de peptone les globulins disparaissaient de la circulation, et qu'on avait par conséquent un sang incoagulable déglobulinisé ; mais au bout d'un certain temps (30 minutes environ), les globulins reparaissent, le sang restant incoagulable ; le sérum d'anguille, l'extrait de muscles d'écrevisse se comportent de même : avec ces substances on peut obtenir, à volonté, du sang incoagulable avec ou sans globulins.

Le sulfate d'atropine injecté dans le système porte détermine un retard considérable de la coagulation (Doyon) ; dans le sang atropiné, les globulins ne subissent aucune modification.

J'ai montré avec M. Achard (1) qu'une injection intra-veineuse de bleu de Prusse avait la propriété de rendre le sang du chien incoagulable. Cette incoagulabilité est précédée pendant les premières minutes qui suivent immédiatement l'injection d'une phase d'hyper-coagulabilité extrême, pouvant aller jusqu'à la thrombose veineuse généralisée. Qu'il soit incoagulable ou hyper-coagulable, le sang au bleu de Prusse contient toujours des globulins isolés en nombre sensiblement normal.

(1) *C. R. Société biologie*, I, 1909.

L'extrait de sangsue se comporte comme la peptone.

4° **Les globulins dans les sangs hyper-coagulables.** — La gélatine qui, au point de vue de la coagulation, est l'antagoniste de la peptone, se comporte, quant aux globulins, exactement comme cette substance et permet d'obtenir un sang hypercoagulable dépourvu des globulins.

Nous avons vu qu'un grand nombre de substances colloïdales en injection intra-veineuse avaient la propriété de faire disparaître les globulins de la circulation : extrait éthéré de muscles de chien et de cobaye, huile, pancréatine, lécithine, gomme arabique, albumine du blanc d'œuf, sulfure d'arsenic colloïdal, électrargol, etc. Ces différentes substances ne modifient que très peu le temps de coagulation ; quelques-unes le diminuent, le caillot se rétracte normalement. On voit donc que la coagulation et la rétraction ne sont pas conditionnées par la présence des globulins. On ne saurait non plus invoquer la présence de produits de destruction de ces éléments, leur disparition étant due non pas à une destruction, mais à une répartition différente et à leur accumulation dans certains réseaux capillaires.

5° **Dissociation des deux temps de la coagulation.** — J'ai exposé plus haut les recherches de Ducceschi, Loeb, sur les deux temps de la coagulation ; ces auteurs ont montré qu'on pouvait avec les oxalates arrêter la coagulation à son premier temps, et il résulte de leurs recherches que le calcium ne paraît pas indispensable au premier temps de la coagulation. Les travaux de ces auteurs ont surtout porté sur le sang des ovipares et des invertébrés.

Je viens de montrer plus haut comment on pouvait observer la coagulation fibrineuse proprement dite (2e temps) sans agglutination des globulins dans le plasma d'âne.

Il est beaucoup plus facile, et les exemples abondent, de réaliser le premier temps en dehors du second. Je renvoie au chapitre de l'agglutination des globulins (chapitre VI) où on verra de nombreux exemples de sangs oxalatés ou citratés, non coagulés, avec globulins agglutinés.

J'ai indiqué antérieurement les raisons qui me faisaient admettre que dans les sangs déglobulinisés *in vivo*, la disparition

des globulins était due à leur agglutination ; dès lors on doit considérer ces sangs déglobulinisés *in vivo* comme des sangs ayant subi la première coagulation. Un certain nombre de ces sangs ayant subi la première coagulation ont une aptitude normale à subir la deuxième ; il en est un certain nombre pour lesquels la deuxième coagulation est considérablement retardée (sang de peptone ou de sangsue, par exemple).

On voit que, chez les mammifères, on peut *in vitro* produire, indépendamment l'un de l'autre, les deux temps de la coagulation et *in vivo* réaliser le premier temps isolément avec des agents dont quelques-uns sont des anti-coagulants pour le deuxième.

6° **Observations cliniques.** — Les observations cliniques sont souvent invoquées à l'appui du rôle rétractant des hématoblastes (Hayem) : il s'agit de numérations dans du sang cutané, et j'ai montré l'importance qu'il fallait leur attribuer ; la rétractilité du caillot serait proportionnelle au nombre des hématoblastes et lorsque ceux-ci ne sont pas diminués de nombre ou sont augmentés, les auteurs invoquent une atteinte fonctionnelle. Voici une observation clinique où j'ai observé une coagulation et une rétraction normales malgré l'absence de globulins.

F..., âgée de 11 ans, service du professeur Hutinel (l'observation complète sera publiée ultérieurement par le Dr Paisseau). Anémie pernicieuse de type aplastique (1.500.000 R. et 3.000 Bl au moment de l'entrée dans le service, 1er décembre), morte le 18 (635.000 R. et 1.200 Bl.). Pas d'hématies nucléées. Lymphocytose. Evolution rapide en 3 mois, fébrile, avec hémorragies buccales et purpura. Pas d'hypertrophie splénique ni ganglionnaire. A l'autopsie, moelle jaune.

J'ai fait deux prises dans la veine le 12 et le 17 décembre : 1 cmc. 8 de sang pour 0,2 de citrate. Je n'ai pas vu de globulins : ce sang donnait, avec ma technique, exactement l'aspect d'un sang peptonisé sans globulins.

Le sang de la veine dans les 2 cas, malgré la « diathèse hémorragique », a coagulé en 6 à 7 minutes et a rétracté normalement, malgré l'absence de globulins.

Au chapitre XII, p. 178-179 on trouvera l'observation d'un certain nombre de chiens avec très grande diminution des globulins, diminution beaucoup plus forte même que dans les observations cliniques invoquées en faveur du rôle rétractant des hématoblastes-plaquettes : leur sang coagulait et rétractait.

Des observations et expériences que je viens de rapporter, se dégage le fait que les globulins ne sont pas indispensables à la coagulation du sang ni à la rétraction du caillot (1). Je ferai remarquer que cette conclusion, contraire aux idées généralement encore acceptées aujourd'hui, pouvait être prévue *à priori*. La lymphe dépourvue de globulins coagule, rétracte même. Or, la lymphe et le sang, *in vivo* aussi bien qu'*in vitro*, obéissent aux mêmes lois de coagulation. Je considère comme irrationnel d'admettre dans le sang, l'existence d'un élément dont le rôle serait précisément d'entrer en fonction, lorsque ce dernier a été extrait des vaisseaux. Chez l'animal vivant, le sang à l'intérieur des vaisseaux reste indéfiniment liquide. Ce n'est que tout à fait exceptionnellement à l'état pathologique que l'on peut observer des thromboses, et expérimentalement, il est bien plus facile d'obtenir des sangs incoagulables que de produire des coagulations.

L'expérience classique de la jugulaire de cheval, excisée entre deux ligatures, et dans laquelle le sang se dessèche sans coaguler, montre bien que le sang intra-vasculaire est un liquide incoagulable : elle concorde avec les expériences de Delezenne, de Spangaro qui ont montré qu'on pouvait obtenir des plasmas incoagulables ou à coagulation très retardée lorsqu'on recueillait le sang à l'intérieur des vaisseaux. La coagulabilité du sang est une propriété qui apparaît après contact avec les tissus, qui est proportionnelle à la durée ou à l'intensité de ce contact. Le sang extrait des vaisseaux coagule, parce qu'il a touché les tissus, et non pas parce qu'il porte en lui un hémostatique puissant.

(1) M. Ph. Pagniez (Aperçu sur la question des plaquettes, *Archives des maladies du cœur*, 1909, n° 1, p. 17) a émis l'hypothèse que dans le sang de peptone incoagulable avec plaquettes abondantes, les plaquettes étaient peut-être inactives ou inactivées, par la peptone. Le fait que la peptone (il en est de même de la gélatine, de la lécithine, de l'ovalbumine, etc.) active la coagulation de plasmas faiblement citratés ou oxalatés, est au contraire, si l'on admet les idées de Le Sourd et Pagniez sur la coagulation et la rétraction, en faveur d'un rôle activant de la peptone sur les fonctions des plaquettes.

CHAPITRE XIV

LE PROBLÈME DE L'ORIGINE DU GLOBULIN

§ 1. — Les globulins dans les liquides de l'organisme autres que le sang (lymphe, sérosités, exsudats).

Après avoir défini et caractérisé le globulin, avant d'aborder le problème de son origine, la première question qui se pose est celle de sa répartition dans l'organisme ; en effet, la présence ou l'absence de globulins dans certains organes ou dans certains milieux, peut fournir des indications relativement à ses origines.

1° *La lymphe contient-elle des globulins ?* — Les auteurs qui se sont occupés de la composition histologique de la lymphe n'y signalent pas d'éléments figurés en dehors des leucocytes et des globules rouges. Mosen, avec la technique que j'ai exposée dans le chapitre I, n'a pas vu de plaquettes dans la lymphe.

J'ai examiné le chyle du chien recueilli soit dans la citerne de Pecquet, soit dans les chylifères intestinaux. Le chyle était aspiré dans une pipette paraffinée, en évitant autant que possible le contact des tissus : l'examen était fait avec la technique ordinaire à une température de 38°. Le résultat de ces recherches a été absolument négatif.

Je me suis également servi d'anti-coagulants avec le même résultat. Les examens sur lames sèches ont été également négatifs.

2° *Les sérosités contiennent-elles des globulins ?* — La formule cytologique des différentes sérosités a été l'objet dans ces dernières années d'un grand nombre de recherches suscitées par les travaux de Widal et Ravaut. Sur la présence ou l'absence de globulins, ces travaux ne donnent en général aucun renseignement. Seul, Buckmaster signale l'absence de plaquettes dans les sérosités.

J'ai recherché sur lames sèches la présence des globulins dans

la sérosité péritonéale du chien, du lapin, du cobaye, du rat blanc et de la souris, avec résultat négatif. J'ai fait des recherches complémentaires de contrôle en examinant les sérosités à l'état frais. Les animaux étaient sacrifiés par hémorragie : la cavité séreuse à examiner était ouverte avec les plus grandes précautions de manière à éviter l'introduction de sang. La sérosité était aspirée dans une pipette paraffinée. L'examen était fait en chambre humide, à la température de 38°, avec le dispositif ordinaire. Je n'ai jamais vu un seul globulin.

Dans une autre série d'expériences, j'ai cherché à voir s'il ne serait pas possible de provoquer expérimentalement le passage des globulins dans les séreuses. J'ai injecté dans la cavité péritonéale du cobaye de l'eau salée physiologique, du nucléinate de soude, sans obtenir d'autre résultat qu'un afflux leucocytaire. Chez un chien j'ai produit par injection de dextrine dans la plèvre un véritable pus aseptique, extraordinairement riche en leucocytes, mais ne contenant pas un seul globulin.

Au cours d'une expérience faite dans un tout autre but, j'ai obtenu une sérosité péritonéale hémorragique. Il s'agissait d'un chien auquel j'avais pratiqué une injection intra-veineuse de sérum d'âne. L'animal présentait à l'autopsie des hémorragies sous-pleurales, une hémorragie pariétale de la vésicule biliaire. Le liquide péritonéal, plus abondant que d'ordinaire, franchement hémorragique, ne contenait pas de globulins.

Les constatations que j'ai pu faire en clinique sont d'accord avec mes résultats sur l'animal. Dans le liquide ascitique, aussi bien que dans le liquide pleural, il n'y a jamais de globulins.

L'observation est facile à faire avec le liquide ascitique : il suffit de se servir d'un trocart vaseliné et de recueillir le liquide dans un verre paraffiné. L'examen du liquide pleural est un peu plus délicat, étant donné la nécessité de se servir d'une aiguille assez fine. Pour éviter toute cause d'erreur due à la coagulation, la seringue était, avant toute aspiration, partiellement remplie de citrate ou d'oxalate de soude de manière à avoir un liquide citraté à 1 0/0 ou oxalaté à 2 0/00. Dans les sérosités pathologiques, il est fréquent de rencontrer de petites masses amorphes et irrégu-

lières qui, par leur taille, pour un observateur non prévenu, pourraient simuler des globulins altérés : la distinction entre les deux est facile : ces petites masses sont plus réfringentes, plus opaques que les globulins. En outre, elles sont beaucoup plus denses. Dans l'examen en goutte pendante, les globulins montent toujours et rapidement à la partie supérieure de la goutte, tandis que ces masses tombent à la partie inférieure avec les leucocytes dont elles ne sont vraisemblablement que des débris. D'ailleurs, sur lames sèches, leurs réactions colorantes variables trahissent la multiplicité de leur origine (débris endothéliaux, leucocytaires, fibrineux) et jamais elles n'ont les réactions tinctoriales des globulins.

Je n'ai pas trouvé de globulins dans une ascite hémorragique cancéreuse ; il n'en existait pas davantage dans un liquide céphalo-rachidien hémorragique.

Dans les liquides séro-purulents ou purulents, dans le pus, je n'ai jamais rencontré de globulins : j'y ai rencontré des débris protoplasmiques ou nucléaires, de formes extrêmement variables, plus réfringents que les globulins, beaucoup plus denses. Ces débris sont faciles à étudier avec les techniques ordinaires : il n'est point nécessaire de précautions spéciales pour les obtenir sur lames sèches ; on peut aisément constater que leurs réactions colorantes ne sont pas celles des globulins et il est possible d'établir leur genèse aux dépens des leucocytes, polynucléaires ou mononucléaires.

Ces résultats négatifs me semblent intéressants à deux points de vue.

Ils montrent d'abord que la présence de globules rouges et de leucocytes n'entraîne pas fatalement la présence de globulins et cette constatation n'est pas en faveur des théories qui voudraient faire des globulins des dérivés des globules rouges et des globules blancs.

Ils montrent ensuite que les globulins ne sont pas capables de sortir des vaisseaux comme les leucocytes ou même les globules rouges et qu'ils disparaissent très rapidement par agglutination et destruction (hémorragies des séreuses).

§ 2. — Les globulins dans les organes hématopoiétiques. — Leur présence dans la rate. — Influence de la splénectomie.

Les monographies de Roger et Josué, Jolly, Pappenheim, ne donnent aucune indication sur la présence ou l'absence de globulins dans la moelle osseuse. G. Vassale et P. Foa signalent leur absence. Ces deux derniers auteurs les ont trouvés dans la rate ; Vassale en a vu dans les ganglions lymphatiques.

J'ai cherché les globulins dans la moelle osseuse du lapin, du cobaye, du chien. Il n'existe pas encore de technique permettant l'observation et l'identification des globulins sur coupes. Je les ai recherchés sur des préparations par empreinte après fixation par le Flemming ou l'alcool absolu, coloration au Giemsa. Cette méthode imparfaite, mais qui donne cependant des résultats positifs avec la rate, m'a donné constamment, avec la moelle osseuse, des résultats négatifs sur un nombre considérable d'examens.

Sur certains sujets, j'ai trouvé des moelles assez diffluentes pour pouvoir en prélever une goutte et l'examiner en chambre humide vaselinée à la platine chauffante ; mes résultats ont encore été absolument négatifs. J'ai dissocié la moelle en milieu paraffiné, dans l'eau salée citratée à 1 0/0 ou oxalatée à 2 0/00 ; le résultat a encore été négatif.

Sur des préparations de rate par impression, j'ai constaté, ainsi que Foa, par coloration au Leishman ou au Giemsa d'une manière fréquente, mais non régulière, l'existence des globulins, le plus souvent en amas. J'ai dissocié en milieu paraffiné dans l'eau salée citratée des fragments de pulpe splénique : dans tous mes examens, j'ai pu reconnaître de la manière la plus incontestable l'existence de globulins en quantité notable ; ils avaient presque tous leur forme arrondie, mais ils avaient leur réfringence absolument caractéristique,et en goutte pendante, ils montaient rapidement à la partie supérieure de la préparation. Il en était ainsi sur plusieurs rates de chien. de lapin, de cobaye et sur une rate humaine enlevée à la suite de rupture traumatique.

On peut se demander si ces globulins proviennent du parenchyme splénique ou du sang qui y est contenu.

Chez les animaux saignés à blanc, il ne m'a pas paru que le nombre de globulins contenus dans la rate fût sensiblement diminué. J'ai essayé de laver la rate avec un courant d'eau salée citratée, j'ai constaté une diminution des globulins, mais non leur disparition complète. C'est d'ailleurs là une méthode qui me paraît défectueuse : si l'on considère le mode de la circulation splénique, lacunaire en grande partie, il est évident qu'il est à peu près impossible, à moins de produire de grosses lésions, de chasser tout le sang qui y est contenu.

Avec les mêmes techniques (dissociation dans l'eau salée citratée), les globulins sont beaucoup plus rares et inconstants dans les ganglions lymphatiques. Sur lames sèches, il est très rare d'en observer. Foa a fait remarquer que les éléments décrits par un certain nombre d'auteurs sous le nom de plaquettes ne sont que des fragments de certains leucocytes mononucléaires, dont ils ont toutes les réactions et en particulier l'affinité pour la pyronine. Mes résultats sont pleinement d'accord avec ceux de l'auteur italien. Je ne pense pas — jusqu'à preuve du contraire — que les éléments décrits par Dominici dans les ganglions lymphatiques sous le nom de globulins, et formés par la gemmation du protoplasma de certains mononucléaires, soient des globulins tels que ceux que je définis dans les chapitres II, III et VIII : il y a des différences profondes entre la structure et les affinités colorantes des mononucléaires et des globulins : si le globulin provient des mononucléaires, il en provient par un mécanisme plus compliqué qu'une simple fragmentation, et qui n'a jamais été expliqué, ni démontré jusqu'à aujourd'hui.

En résumé, avec des techniques, imparfaites, il est vrai, on peut constater des globulins d'une manière constante dans la rate, sans toutefois pouvoir dire s'il s'agit là d'éléments autochtones ou importés.

Fusari, Foa ont constaté la persistance des plaquettes après splénectomie.

J'ai enlevé la rate à un certain nombre de lapins : j'ai constaté la persistance des globulins de un jour à 6 mois après l'opération. Chez deux sujets, j'ai pratiqué leur numération avec les résultats suivants :

Lapin n° 1, 72 heures après l'opération.

R	3.010.000
Bl.	4.000
$\frac{R}{Gl}$	5,95
Gl	505.882

Lapin n° 2, 88e jour, mâle, 3.570 grammes.

R.	4.333.000
$\frac{R}{Gl}$	9,46
Gl.	457.716

Les chiffres trouvés sont des chiffres normaux : le premier est de l'ordre de ceux que l'on trouve après la saignée ; le second est celui que je trouve habituellement chez les lapins conservés depuis plusieurs mois au laboratoire.

En somme, l'ablation de la rate ne modifie pas ou très peu le nombre des globulins : leur présence peut d'ailleurs s'y expliquer en faisant de la rate un organe destructeur de globulins.

La question de l'origine des globulins dans les organes hématopoiétiques ne peut encore être solutionnée d'une manière définitive, faute d'une technique suffisante permettant d'identifier ces derniers sur coupes. On peut, selon toute vraisemblance, éliminer la rate comme organe générateur et les faits ne sont pas favorables à l'hypothèse d'un rôle globulinopoiétique des ganglions ou de la moelle.

§ 3. — Discussion des théories qui font dériver le globulin du globule rouge ou du globule blanc. — Discussion de la théorie hématoblastique.

Il est curieux de constater que parmi les nombreuses opinions contradictoires émises sur l'origine des globulins, le plus grand

nombre en font des dérivés des globules rouges. Pourtant, à un examen superficiel, l'absence de coloration hémoglobique, la réfringence les rapprochent plutôt des leucocytes.

Les conditions mêmes d'observations de certains des auteurs qui n'admettent pas l'autonomie du globulin me dispensent de faire la critique successive de leurs opinions. En effet, soit qu'ils aient opéré à l'état frais en chambre humide, soit à l'état sec sur lames fixées, ces auteurs ont toujours recueilli le sang au contact des tissus. Dans ces conditions, ils ne pouvaient observer de globulins, et les éléments qu'ils décrivent sous le nom de plaquettes sont bien, comme ils le soutiennent, des fragments de leucocytes ou de globules rouges.

S'il en fallait une preuve de plus, l'étude des réactions histologiques achèverait la démonstration. Les plaquettes d'origine leucocytaire décrites par les auteurs ont des réactions variables ; les unes se colorent par des réactifs nucléaires comme l'hématéine ou le vert de méthyle, d'autres se colorent seulement par les couleurs protoplasmiques. Dans l'exposé des réactions colorantes des globulins (1), j'ai montré combien étaient spéciales leurs affinités tinctoriales, affinités qui les différencient profondément des autres éléments du sang.

J'ai cherché s'il était possible de saisir une relation du globulin avec les globules rouges ou les globules blancs.

Mes recherches ont porté sur des animaux normaux ou soumis aux conditions expérimentales les plus variées (intoxications, infections, etc.) et qui sont relatées dans les différents chapitres de ce travail ; j'ai utilisé dans de nombreuses recherches le sang de chiens qui avaient été soumis à des saignées plus ou moins copieuses pour rendre leur sang plus sédimentable ; sur ces animaux, en pleine rénovation sanguine, c'est-à-dire particulièrement favorables à l'étude des relations du globulin avec ses éléments générateurs, je n'ai pas vu autre chose que ce que j'avais vu sur les animaux neufs ou soumis aux conditions expérimentales énumérées plus haut (âne, chien, lapin, cobaye).

(1) Chap. VIII.

Sur plusieurs centaines d'examens de plasmas de mammifères, examinés à l'état frais, je n'ai jamais rencontré de figure qui permît de supposer une fragmentation leucocytaire : j'ai toujours vu d'une part, des globulins isolés ; d'autre part, des leucocytes absolument intacts.

J'ai étudié le plasma humain au cours de différentes affections. Avec une seringue munie d'une grosse aiguille et contenant 0 cmc. 5 de citrate de soude à 10 0/0, légèrement tiédie, je ponctionne une veine du pli du coude et fais pénétrer dans la seringue 4 cmc. 5 de sang, qui sont immédiatement versés dans un verre paraffiné et qu'on laisse ensuite sédimenter à l'étuve à 38°. L'examen est fait avec le dispositif ordinaire. Les globulins ont en général une forme arrondie ou ovalaire, très peu ont leur forme allongée : cela tient évidemment aux conditions de la prise de sang. Les leucocytes se sont toujours présentés avec la forme de globes parfaitement réguliers : je n'ai jamais vu de fragmentation (fièvre typhoïde, pneumonie, leucémie, néphrite).

J'ai complété l'étude du sang à l'état frais par des examens de sang fixé et coloré : si je n'avais été instruit par l'examen du sang frais, il m'aurait été difficile d'avoir sur les relations des globulins avec les autres éléments du sang une autre opinion que celle des auteurs dont je critique les opinions. Le procédé d'étalement du sang sur lame, avec le dos d'une lame rodée, suivi de dessiccation rapide, est un procédé grossier et brutal, qui peut donner des résultats satisfaisants avec des éléments de structure simple et surtout d'élasticité parfaite comme les globules rouges ; avec les globules blancs, il y a toujours des éléments altérés ; le nombre de ces éléments altérés diminue lorsqu'on fixe le sang à l'état frais, sans dessiccation, comme le conseille J. Jolly, mais je ne crois pas qu'il soit possible d'éviter toute altération artificielle. Quant aux globulins (je suppose que l'on soumette à l'étalement des globulins non altérés), éléments d'élasticité nulle, ils ont un aspect extrêmement variable et leur structure même est modifiée comme je l'ai indiqué au chapitre VIII, p. 117. Entre des leucocytes à protoplasma étalé, à noyau non colorable ou mal colorable et des globulins qui sont

altérés par le contact des tissus, agglutinés, on conçoit facilement que les auteurs aient trouvé des relations et des rapports généalogiques ; ils s'y croyaient d'autant plus autorisés que sur les sangs qu'ils étudiaient, sangs cutanés, plus ou moins agglutinés, l'étalement exagérait encore les contacts entre globulins et leucocytes, globulins et globules rouges ; telle est la pathogénie d'un certain nombre de plaquettes endoglobulaires, de plaquettes en voie d'expulsion ; il est même remarquable de constater la tendance qu'ont les globulins, au cours de l'étalement de certains sangs, à aller se fixer au niveau du centre excavé des globules rouges. Il m'est arrivé tout récemment encore de me laisser vraiment impressionner par de pareilles images, mais il est facile de se convaincre de leur artifice : il suffit d'étaler séparément une goutte de la purée globulaire et une goutte de plasma après sédimentation ou centrifugation.

Avec les procédés de fixation ou de coloration exposés au chapitre VIII, j'ai étudié un grand nombre de lames de sang dans les conditions les plus variées (1). Je ne pourrai que répéter ce que j'ai dit sur les réactions colorantes des globulins : je n'ai jamais rien vu dans le sang qui me permît d'établir une relation génétique avec les globules blancs.

J'ai observé une seule fois des altérations leucocytaires que je ne crois pas artificielles : *pendant* une brûlure, j'ai vu chez un chien de très rares leucocytes, à noyau apparent, et fragmenté, dans le plasma citraté ; à côté des globulins existaient de petits corpuscules, de taille semblable, mais de réfringence *différente* : sur les lames colorées, j'ai retrouvé ces petits corpuscules ; ils étaient profondément différents des globulins et représentaient probablement des fragments leucocytaires :

537. — *Chien*, 17 kilos, saigné antérieurement à l'axillaire. A 3 heures injection intra-péritonéale de 44 cmc. de la solution chloral-morphine, A 3 h. 10, on inonde le thorax, l'abdomen, les pattes de devant avec 5 litres d'eau bouillante.

(1) Sangs d'âne, de chien, de lapin, de cobaye ; sangs de plusieurs centaines de chiens après saignée. Sangs de chien, de lapin et de cobaye au cours d'intoxications aiguës ou chroniques. Sangs de chiens infectés par des trypanosomes ou des piroplasmes.

Saignée A, 3 h. 15, fémorale droite, pression basse.
Saignée B, 3 h. 45, fémorale droite, pression basse.
A 4 h. on imbibe les régions ébouillantées d'alcool que l'on enflamme.
Saignée C, à 4 h. 5.
De 4 h. 15 à 4 h. 25, flambage des mêmes régions à l'alcool. Saignée D, pendant l'achèvement du flambage : pression très basse. L'animal succombe à 4 h. 27. Chaque saignée représentait 75 cmc.

A a coagulé en 30 minutes, B,C, D en 10 à 15 minutes. Les quatre échantillons ont rétracté. B, C, D étaient hémolysés (hémolyse vraie, les plasmas citratés étant également hémolysés).

A, B, C, D ont été citratés à 1 0/0 : il était facile de se rendre compte après sédimentation qu'il s'est produit de A en D une forte destruction globulaire.

Dans les quatre échantillons, les globulins existent, isolés et de nombre sensiblement normal. Les 3/4 sont de forme allongée.

Les globules rouges ont leur aspect normal.

En D, on voit de très rares leucocytes avec noyau apparent ; il existe également quelques éléments arrondis, de la taille d'un globulin, mais de couleur plus sombre (probablement fragments leucocytaires).

A la platine chauffante entre lame et lamelle, il est facile de voir les mouvements amiboïdes des leucocytes de A, B, C, D.

Du plasma citraté, D, a été étalé sur lames, fixé à l'alcool, coloré au Giemsa. Les globules rouges sont normaux ; il en est de même de la plus grande partie des leucocytes. Il existe cependant quelques polynucléaires à noyaux fragmentés en petites masses pycnotiques, de taille inégale. Il existe en outre de petits éléments formés d'une masse centrale arrondie, bleu foncé, d'aspect pycnotique, entourée d'une légère couche de protoplasma bleu clair. Ces éléments ont la taille des globulins ; je suppose qu'ils représentent des fragments leucocytaires.

Les globulins ont leur aspect habituel et la distinction est absolue avec les autres éléments.

Les rapports des globulins avec les globules rouges pouvaient être et ont été envisagés de deux façons différentes. On pouvait faire développer le globule rouge aux dépens du globulin, faire du second un germe du premier, c'est la théorie qui a été soutenue en France par Hayem. On pouvait, au contraire, considérer le globulin comme une forme régressive du globule rouge ou comme un produit d'expulsion ou de destruction de ce dernier : c'est la théorie qui a recueilli de beaucoup le plus de suffrages à l'étranger.

D'après Hayem, le globule rouge pourrait avoir deux origines différentes : chez l'embryon, il se développerait aux dépens de l'hématie nucléée, tandis que chez l'adulte il proviendrait de la différenciation des hématoblastes. On s'explique mal le fait d'un

même élément pouvant avoir deux générateurs différents ; on se l'explique d'autant plus mal que les globulins existent chez le fœtus et peuvent être, comme je l'ai constaté, relativement plus nombreux, par rapport aux globules rouges, que chez l'adulte.

Un argument invoqué souvent par Hayem, c'est la crise hématoblastique après la saignée ; on trouvera au chapitre numération un certain nombre de documents à ce sujet ; on y verra que les globulins comme les globules rouges diminuent de nombre après la saignée, que leur nombre se relève un peu plus vite et que le rapport $\frac{R}{Gl}$ tend à baisser ; mais jusqu'ici, je n'ai point observé une *crise* au sens de Hayem ; je n'ai pas vu le nombre absolu des globulins doubler après la saignée, et pourtant la méthode de numération que j'emploie m'a permis de constater des augmentations numériques de globulins, dans certaines circonstances, bien supérieures aux chiffres des plus fortes crises « *hématoblastiques* ».

Un autre argument invoqué par Hayem en faveur de sa théorie, c'est l'existence de formes de passage entre les globules rouges et les hématoblastes ; j'ai recherché ces formes de passage entre les globules rouges et les hématoblastes dans les cas où, d'après Hayem, on peut les observer le plus facilement, c'est-à-dire après la saignée ou à la suite de saignées répétées (1), et à l'état pathologique, au cours de la chlorose ; j'ai vu tous les globulins sans exception absolument incolores, avec leur forme et leur taille normales ; sur lames sèches, au Giemsa ou au Borrel, ils avaient leur aspect habituel : je n'ai pas constaté la moindre forme de transition.

Les infections à trypan. gambiense produisent une anémie marquée : chez le rat blanc, l'évolution se fait en 15 jours à 3 semaines avec le virus dont je dispose ; au moment de la mort, il y a toujours un grand nombre d'hématies polychromatophiles et d'hématies nucléées en circulation. Chez le lapin (2), il existe un

(1) Chien, lapin.

(2) Lapin sacrifié au 53e jour, 1.920 grammes, cachectique, avec les lésions classiques des yeux, du nez et des organes génitaux. Trypans absents de la circulation.

R.	1.460.000
Gl	1.682.027

nombre considérable d'hématies polychromatophiles. Ces anémies rentrent donc, d'après les conceptions actuelles, dans le cadre des anémies plastiques avec régénération sanguine ; elles semblent donc particulièrement favorables à vérifier les relations du globulin et du globule rouge, d'autant plus que chez le lapin, où les parasites sont rares ou absents, il y a augmentation numérique relative et absolue des globulins, une véritable « crise hématoblastique ». Je n'ai pas vu la moindre forme de transition. Je conclus de tout ceci, qu'il n'existe aucun fait permettant de considérer le globulin comme une jeune globule rouge.

Les faits suivants, concernant des anémies sans processus de régénération, des anémies aplastiques, ne sont pas en faveur des théories qui veulent faire du globulin une forme régressive du globule rouge.

J'ai pu observer un cas d'anémie pernicieuse du type aplastique (1) ; il est curieux de constater que dans ce cas où le processus hémolytique existe seul, il n'y a pas de modification morphologique des hématies et que la déglobulinisation est encore plus marquée que la déglobulisation. Au cours de la piroplasmose canine, j'ai observé également une anémie du type aplastique, avec intégrité des hématies, absence de basophilie (2) et diminution numérique considérable des globulins. On voit donc qu'au cours de destructions globulaires extrêmes, non seulement les globulins n'augmentent pas de nombre, mais encore qu'ils diminuent dans des proportions très fortes, sans que l'on puisse trouver la moindre forme de transition entre eux et les globules rouges.

J'ai exposé au chapitre I les théories qui font de la plaquette

(1) L'observation résumée est rapportée chapitre XIII.

(2) Cette intégrité des globules rouges avait déjà frappé H. F. Nuttall et G. S. Graham Smith (Canine piroplasmosis. *Journal of Hygiène*, VI et VII, 1905-1906) qui au cours de leurs nombreuses recherches n'ont vu qu'une hématie basophile. Sur les quatre chiens, dont l'observation est rapportée au chapitre numération, je n'en ai pas constatée.

un produit d'expulsion du globule rouge, nucléoïde ou reste nucléaire. Je laisse entièrement de côté les différentes théories du nucléoide : je renvoie le lecteur à l'excellent travail de J. Jolly (1) où il y verra démontré le caractère entièrement artificiel de ces images. Les théories qui rattachent le globulin aux restes nucléaires méritent un examen plus sérieux.

On sait que les hématies, nucléées chez les embryons de mammifères, sont anucléées chez l'adulte. Deux théories principales ont été proposées pour expliquer cette dénucléation : l'expulsion d'une part, l'atrophie d'une autre. Enfin un certain nombre d'auteurs, de moins en moins nombreux, admettent la persistance du noyau dans l'hématie adulte.

Un grand nombre de points restent encore obscurs dans le mécanisme de la transformation de l'hématie. Les résultats de mes constatations concordent avec les principaux résultats de J. Jolly et Fr. Weidenreich.

L'atrophie nucléaire est facile à constater. Dans le sang de très jeunes embryons, on trouve tous les intermédiaires entre le noyau à réseau chromatinien bien dessiné, capable de karyokinèse, et le noyau pycnotique du normoblaste classique On peut trouver aussi, mais plus rarement, des noyaux extrêmement condensés ayant moins de deux à trois μ : enfin on peut observer des restes nucléaires sous formes de granulations atteignant les limites de la visibilité (J. Jolly). Les restes nucléaires de Jolly se colorent par toutes les couleurs nucléaires, safranine, vert de méthyle, hématéine.

Par leur morphologie et leurs réactions colorantes, les restes nucléaires intra-globulaires se différencient profondément du globulin et je ne vois pas actuellement comment on pourrait établir un rapport entre les deux.

J'ai recherché si, en produisant des altérations des hématies, on

(1) J. Jolly, Recherches sur la formation des globules rouges des mammifères *Arch. d'anat. microscopique*, IX, 2, 1907, p. 133.

pourrait mettre en évidence des formes de transition avec les globulins. J'ai fait des observations *in vivo*, *in vitro*.

In vivo, j'ai injecté des agents hémolytiques très actifs tels que le venin de cobra, le sérum d'anguille, la saponine ; j'ai multiplié les examens et les expériences et, malgré une hémolyse intense, je n'ai jamais rien vu qui ressemblât à une figure de transition entre le globule rouge et le globulin.

Je n'ai pas obtenu davantage de résultat avec la toluylendiamine ou l'acide pyrogallique.

Chez un cobaye, intoxiqué par le plomb et succombant à l'anémie, j'ai vu quelques hématies granuleuses, à granulations basophiles bien différentes des granulations des globulins, qui ne prennent pas les colorants basiques.

In vitro, avec le venin de cobra j'ai produit des ombres globulaires, mais rien qui ressemblât à un globulin. Notons qu'en hémolysant des hématies adultes, on ne peut jamais mettre en évidence à leur intérieur de noyau ni même de restes nucléaires.

En résumé, chez l'animal neuf, saigné, infecté, au cours d'intoxications et d'infections hémolysantes, il n'est pas possible de mettre en évidence une relation entre le globule rouge et le globulin. *In vitro*, il n'est pas davantage possible par des processus destructeurs de déceler un germe de globulin à l'intérieur du globule rouge.

§ 4. — Le globulin pendant la vie embryonnaire.

L'étude des globulins chez l'embryon présente de nombreuses difficultés : les tissus avant la naissance ont un pouvoir coagulant beaucoup plus énergique que chez l'adulte ; Delezenne a montré qu'au point de vue de la coagulation les tissus des embryons se comportaient comme les tissus des ovipares. Leur action agglutinante et destructive à l'égard des globulins est également beaucoup plus forte que chez l'adulte. Si l'on tient compte de ce fait qu'en raison de la faible taille des sujets, les auteurs ont fait porter leur examen sur le sang du cœur pris avec une pipette, sans précautions spéciales, ou même sur le sang du cou après section,

on s'explique facilement que la plupart des travaux sur l'embryologie du sang ne fassent pas mention des globulins. Sur du sang obtenu dans ces conditions, Engel et Helber ont cru pouvoir établir la filiation des globulins aux dépens du noyau des hématies et d'après eux, tant que toutes les hématies sont nucléées chez l'embryon, il n'y a pas de plaquettes dans le sang. Les planches qui accompagnent les mémoires de ces auteurs n'entraînent pas la conviction que leurs plaquettes soient des globulins.

Mes études, encore en cours d'exécution, ont porté sur des embryons de cobaye, lapin, de souris blanche, depuis le stade de 8 millimètres jusqu'à la naissance; j'ai examiné également un certain nombre de fœtus de vache, de brebis et de chienne.

Sur un fœtus de vache de 22 centimètres et sur un autre de 35 centimètres, j'ai pu, sur du sang aspiré avec une pipette paraffinée dans la veine cave supérieure, voir, après sédimentation des globulins en nombre sensiblement égal à celui de l'adulte ; ils avaient une forme arrondie, mais régulière (6 à 8 heures après la mort). Les leucocytes étaient extrêmement rares, et l'on ne voyait, pour ainsi dire, que des globules rouges et des globulins.

J'ai également pu constater la présence de globulins dans le sang du fœtus de mouton de 20 centimètres.

Sur un fœtus de mouton (1), de 17 centimètres, j'ai trouvé :

R	2.680.000
$\frac{R}{Gl}$	3,49
Gl	768.908

Chez un fœtus de chienne (20 cent., 88 gr., pas de poils), j'ai compté 1 globulin pour 3,40 globules rouges.

Sur des embryons de souris et de cobayes de 10 à 15 mm. avec une très fine pipette contenant un peu de citrate de soude à 10 0/0, je pique en aspirant la tache rouge qui correspondant au cœur : lorsque la pipette pénètre immédiatement dans le cœur,

(1) Brebis dont l'observation est rapportée chapitre III, p. 53 : il ne s'agit pas d'un fœtus normal, étant donné les nombreuses saignées qu'avait subies la mère. Je donne le fait simplement pour montrer que chez le fœtus le globulins peuvent être très nombreux. Prise de sang dans la veine ombilicale, le cordon battant encore.

on peut, mais cela est toujours hasardeux, avoir une goutte de sang utilisable. La goutte de sang est déposée sur une lamelle vaselinée et examinée avec la technique ordinaire. Les bords de la goutte sont le seul point qui puisse être examiné d'une manière utile. Par cette méthode j'ai pu observer quelques minutes, avec leur forme allongée typique, des globulins dans le sang d'un embryon de souris de 15 mm. Chez un embryon de cobaye de la même taille je n'ai pu voir que des globulins altérés. Dans les deux cas, ils m'ont paru aussi nombreux que chez l'adulte.

Sur lames sèches, je me suis assuré que les globulins de l'embryon avaient exactement les mêmes réactions tinctoriales que ceux de l'adulte. De plus, j'ai suivi les deux générations successives d'hématies que l'on observe dans le sang de l'embryon, hématies primordiales et hématies définitives (Engel, Jolly), j'ai observé les différents types morphologiques de noyaux et suivi leurs stades atrophiques jusqu'à la formation des restes nucléaires de Jolly, sans jamais rien voir qui permît d'établir la moindre filiation entre le globule rouge et le globulin.

On voit que les globulins existent, nombreux, dans le sang du fœtus où les leucocytes sont extrêmement rares (Tschistovitsch et Yourevitch, Jolly et Acuña) ; cette dernière constatation n'est pas en faveur de l'origine leucocytaire du globulin.

Chez le fœtus, comme chez l'adulte, le globulin se retrouve avec toute son individualité, et il est impossible de trouver une filiation avec le globule rouge.

*
* *

Au cours des différentes constatations que je viens d'exposer relativement à l'origine du globulin et qui ont abouti à la conclusion que le globulin ne dérive ni du globule rouge, ni du globule blanc, *par les différents mécanismes décrits jusqu'à aujourd'hui*, j'ai entièrement laissé de côté l'hypothèse de son origine aux dépens de l'endothélium vasculaire ; je n'ai aucune observation

me permettant de discuter cette hypothèse et je la réserve entièrement.

Il me semble néanmoins, quelle que soit son origine, que le globulin doit être considéré comme un élément indépendant du sang, de par sa morphologie, ses réactions colorantes, ses variations numériques sans relation avec celles des autres éléments du sang, ses réactions biologiques : ce sont en effet de pareils caractères qui font considérer leucocytes et globules rouges comme des éléments indépendants du sang, bien que dérivant en réalité d'une souche commune. C'est dans ce sens que je comprends l'indépendance du globulin.

CHAPITRE XV

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LA STRUCTURE ET LA MORPHOLOGIE DU GLOBULIN

Dans les premiers chapitres de cette étude, j'ai longuement insisté sur les deux aspects différents, sous lesquels pouvait se présenter le globulin : 1° une forme allongée, en bâtonnet, que l'on peut obtenir régulièrement *in vitro* avec la technique que j'ai indiquée ; 2° une forme arrondie ou contractée, que l'on peut faire apparaître sous l'influence de variations de température extra-physiologiques ou d'agents chimiques capables d'altérer morphologiquement d'autres éléments de l'organisme.

Je me propose au cours de ce chapitre de préciser d'avantage la forme du globulin, d'essayer, s'il est possible, de l'étudier simultanément sur plusieurs faces et de déduire de cette étude sa forme vraie dans l'espace : auparavant, je veux attirer l'attention sur certains points que je n'ai fait qu'indiquer jusqu'ici relativement à sa morphologie et à sa constitution.

La constance morphologique du globulin, envisagée dans la série des mammifères, est vraiment remarquable : les différences ne portent que sur des variations de taille suivant l'espèce envisagée. Les globulins du chien sont très volumineux et sous leur forme allongée ont une largeur appréciable ; il en est de même de ceux du chat. Les globulins de l'âne sont beaucoup plus courts et surtout beaucoup plus grêles ; ceux de l'homme sont intermédiaires entre les deux. Les globulins du lapin, du cobaye et du rat blanc sont extrêmement longs et grêles, d'aspect filamenteux.

Chez le même individu, la taille des globulins est extrêmement variable. On sait, que chez un sujet adulte normal, les globules rouges ont sensiblement la même taille et qu'une anisocytose marquée traduit un état anormal du sang. On sait également, que

les leucocytes d'une même variété ont à peu près le même diamètre. Il semble que le globule rouge et le leucocyte ne pénètrent dans le système circulatoire qu'à l'état adulte, et n'y subissent pas de modifications appréciables. En ce qui concerne le globulin, il existe au contraire une anisocytose physiologique considérable, les plus volumineux pouvant avoir trois fois le diamètre des plus petits.

La longueur des globulins les plus volumineux atteint et parfois dépasse légèrement celle des globules rouges. Etalés sur une lame de verre sous leur forme arrondie, les plus gros couvrent à peu près la même surface que les lymphocytes de l'animal ; après étalement, les plus gros des globulins de chat arrivent à couvrir une surface supérieure à celle d'un globule rouge. J'ai suffisamment insisté (chapitres VII et VIII) sur la structure complexe du globulin pour ne pas avoir besoin d'y revenir : j'ai réservé la question de l'existence ou de la non-existence d'une membrane d'enveloppe.

Les très fortes concentrations moléculaires détruisent les globulins : des concentrations plus faibles leur font prendre la forme arrondie, mais à aucun moment, on n'observe de phénomènes de turgescence ou de rétraction permettant de soupçonner l'existence d'une membrane, séparant du milieu extérieur les substances contenues à l'intérieur du globulin ; on ne constate pas davantage l'existence d'une formation spéciale, individualisée par ses réactions histo-chimiques : tout ce que l'on constate, sur les globulins fixés avant étalement, c'est la condensation à la périphérie de l'élément de la substance chromatophile sous forme d'une bordure nette et régulière.

Le globulin a une élasticité absolument nulle : au contact des globules rouges, sous l'influence des chocs qui lui sont imprimés par des parasites tels que les trypanosomes, il présente des changements de position, mais pas de déformation.

La viscosité a été considérée comme une propriété caractéristique de l'hématoblaste-plaquette : le globulin d'âne, dans le plasma pur, n'a aucune tendance à adhérer aux globules rouges et l'agglutination des globulins, dans le plasma pur de cet ani-

mal, ne se produit que bien longtemps après la mise en pile des globules rouges. La mise en pile des globules rouges s'observe chez l'animal vivant, à l'intérieur des vaisseaux : « On peut presque dire que dans le sang veineux ou capillaire, c'est la disposition habituelle des globules rouges » (1) ; les globulins, à l'intérieur des vaisseaux, ne viennent jamais au contact et n'adhèrent pas les uns aux autres, même lorsqu'ils sont groupés par suite du ralentissement de la circulation : les figures 17, 18, 23 du travail d'Eberth et Schimmelbusch (2) sont des plus démonstratives à cet égard.

Les globulins agglutinés, dont les amas ne peuvent être dissociés par agitation de la préparation, restent *isolés* (Voir fig. 7, p. 81) tant qu'ils ne sont pas altérés morphologiquement.

La viscosité des globulins, entraînant la possibilité pour ces éléments de se fusionner, est donc fonction d'une altération ; on peut supposer, qu'à la suite de la rétraction à l'intérieur de ces éléments de la substance chromatophile périphérique, ces derniers venant au contact les uns des autres par l'intermédiaire de la substance amphophile, plus visqueuse, adhèrent les uns aux autres.

Les globulins sont parfaitement visibles à l'ultra-microscope : sur fond noir, ils apparaissent comme des rubans scintillants. On les voit, *dès le début de l'observation, tous les autres éléments du sang, y compris les grands mononucléaires, étant intacts.* Ces caractères différencient les globulins des éléments étudiés sous le même nom par J. Comandon (3), dans du sang cutané, entre lame et lamelle, et qui se détachent des *amas nébuleux*, trente minutes après le début de l'examen.

Le centre des globules rouges est absolument incolore et, de

(1) J. Jolly, Quelques points de la morphologie du sang étudiés par l'observation de la circulation dans l'aile de la chauve-souris. *Archives d'anat. microscop.*, t. XI, fas. 1, p. 14.

(2) *Die Thrombose*, Stuttgart, 1888.

(3) J. Comandon, *De l'usage en clinique de l'ultra-microscope*, Th. de Paris, G. Steinheil, juillet, 1909, p. 138.

même que J. Comandon, je n'y ai jamais constaté aucune formation figurée : il est impossible de voir le germe du globulin dans le globule rouge, aussi bien avec les techniques histologiques usuelles qu'à l'examen ultra-microscopique.

J'ajoute qu'à l'ultra-microscope le globulin vivant a un aspect tout à fait typique, constant, et que son individualité morphologique s'affirme aussi bien à la lumière transmise qu'à l'éclairage latéral (1).

Le dualisme morphologique du globulin (forme allongée, forme arrondie) a été bien observé sur le vivant par Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch : le dessin 1 de la figure 8 représente, d'après Bizzozero, les plaquettes à l'intérieur d'un vaisseau dans la péritoine du cobaye ; on remarque des éléments absolument arrondis et d'autres très allongés. Le même aspect se retrouve dans les dessins 2 et 4 qui sont empruntés à Eberth et Schimmelbusch : il est intéressant de constater que dans le dessin 2 (vaisseau de l'épiploon d'un chien), les globulins ont presque tous la forme allongée et se rapprochant beaucoup des éléments que j'ai représentés dans les figures 1, p. 38 et 2, p. 49.

Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch, pensent, que l'aspect allongé correspond à des éléments arrondis vus de profil. J'admets l'entière exactitude des figures de Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch, mais je m'écarte de ces auteurs sur leur interprétation ; d'après eux, le globulin, vu par la tranche, a la forme d'un fuseau renflé en son milieu : vu par la face, il devrait apparaître avec une convexité marquée ; à la lumière transmise et la lumière diffractée, le globulin, dans sa forme arrondie, devrait se comporter comme un disque bi-convexe : or, il n'en est absolument rien ; il se comporte comme un plan parfait.

(1) Observations au laboratoire de physique de l'Ecole Normale avec le concours de M. Cotton et au laboratoire de physique de l'Ecole de Médecine avec le concours du Dr Turchini. Appareil de Cotton et Mouton : éclairage à l'arc électrique. Observations rapides en été (30°), sans recouvrir d'une lamelle, de préparations de plasmas citratés ou oxalatés d'âne et de chien.

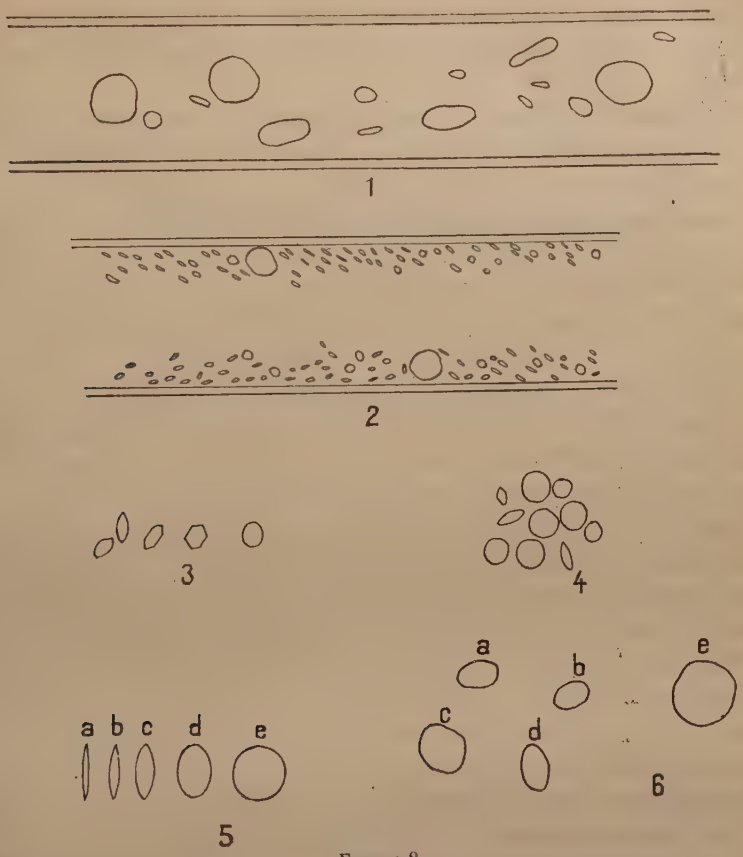


FIGURE 8.

1. Reproduction de la figure 2 du mémoire initial de Bizzozero (*Virchow's Archiv*, Bd. 90, Pl. V. 1882). Les contours du vaisseau n'ont été qu'indiqués.
2. Reproduction de la figure 18 du travail d Eberth et Schimmèlbusch (*Die Thrombose*. Stuttgart, 1888). Observation *in vivo* d'un vaisseau de l'épiploon du chien : circulation très ralentie. Le centre du vaisseau est occupé par des globules rouges qui n'ont pas été reproduits.
3. Reproduction de la figure 10 du même travail : sang humain fixé à l'acide osmique.
4. Reproduction de la figure 2 du même travail : dessin exécuté d'après l'observation sur le vivant ; plaquettes de chien.
5. D'après une préparation personnelle. Dessin à la chambre claire (immersion Zeiss 1/12. Oculaire 3 Leitz) des différents aspects d'un même globulin (fixation au formol, préparation dans l'eau salée, sang de chien).
6. D'après une préparation personnelle. Dessin de globulins de chien, à la chambre claire (fixation au formol et étalement sur lame). Un globule rouge a été figuré en *e* comme terme de comparaison.

Les faits que j'ai observés me permettent de donner une autre explication des faits observés par Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch.

La forme allongée représente, à mon avis, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, l'aspect physiologique du globulin : c'est l'aspect qu'il a dans le sang de l'âne pur, et qu'il conserve malgré ses oscillations et ses déplacements ; quelle que soit l'opinion que l'on puisse avoir sur la nature de ces mouvements, ils existent incontestablement aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, et d'une façon permanente ; ils ont une part dans l'image que revêt le globulin au microscope et il n'a pas été tenu compte jusqu'ici de cette mobilité du globulin dans l'interprétation de sa forme vraie.

Dans le sang citraté, il existe toujours quelques éléments arrondis, mais à l'état d'exception (fig. 2, p. 49). On peut quelquefois — surtout lorsque le sang a été recueilli depuis plusieurs heures — observer le phénomène suivant dont les différentes phases se succèdent en moins d'une minute: un globulin d'aspect très allongé paraît se renfler, devient ovalaire, puis parfaitement rond ; à mesure qu'il s'arrondit, *il devient de plus en plus pâle, et le halo périphérique, de moins en moins marqué*. En même temps qu'il s'arrondit, il descend dans le liquide. Il peut présenter ensuite les phénomènes exactement inverses et remonter à la partie supérieure de la goutte en devenant de plus en plus allongé et réfringent. S'agit-il d'un réel changement de forme ou bien d'un simple changement de sa position d'équilibre ?

Sur des globulins, *fixés* au formol ou à l'acide osmique par le procédé indiqué chapitre VIII, p. 119, j'ai vu, au début de l'examen, entre lame et lamelle, avant que la préparation soit en équilibre, les différents aspects se succéder sur le même élément. Le dessin 5 de la figure 8 représente un même globulin de chien, fixé au formol et dessiné à la chambre claire pendant les différentes phases de sa rotation *a*, *b*, *c*, *d*, *e*. Très rapidement ces globulins fixés se disposent a plat sur la lame et ils apparaissent alors comme des disques *parfaitement plans* et *extrêmement pâles*.

Je ne pense pas que *a* représente la section de *e*. Je crois le globulin d'une épaisseur infiniment moindre. D'après le dessin,

l'épaisseur de l'élément ne serait que de 5 à 6 fois inférieure à son diamètre. En examinant du plasma de chien, j'ai pu constater le fait suivant, avec des lamelles insuffisamment vaselinées : un incident, qui arrive quelquefois avec la technique que j'emploie, si le microscope n'est pas parfaitement horizontal, c'est que la goutte glisse entre la lamelle et la platine chauffante ; au microscope, on voit la fuite rapide de tous les éléments dans une même direction ; dans ces conditions et avec des lamelles imparfaitement vaselinées, j'ai vu des globulins, adhérents au verre par une extrémité, se présenter de champ ; ils étaient d'une minceur extrême, comparable à l'épaisseur de ce papier par rapport à la surface d'une de ces pages. Je crois donc que l'épaisseur *apparente* du globulin dans sa forme allongée est expliquée par les oscillations continues et rapides d'un disque extrêmement mince, vu par la tranche. Lorsque ce disque s'incline, il apparaît comme un fuseau, puis comme un ovale, jusqu'à ce qu'ayant effectué une rotation de 90° sur un de ses grands diamètres, il apparaisse comme une circonférence. On remarquera qu'on s'explique ainsi : 1° les variations de réfringence, le globulin est extrêmement pâle lorsqu'il est vu de face, parce qu'il est vu sous le minimum d'épaisseur ; 2° la diminution du halo, par l'immobilité relative de l'élément.

Ces considérations, dans lesquelles intervient la mobilité du globulin, permettent, je crois, de relier l'un à l'autre les deux aspects du globulin normal ; mais elles n'en laissent pas moins subsister ce fait remarquable, que le globulin normal se présente toujours par la tranche et dans un état d'oscillation continuelle. Quant aux formes d'altérations rondes que j'ai étudiées chapitres IV et V, je pense qu'elles correspondent à une véritable altération de l'élément, qui est plus réfringent, plus épais, *irrégulier*, plus petit, contracté.

Une dernière question se pose, relativement à la signification des mouvements du globulin. Le globulin altéré ou fixé tend à tomber au fond de la préparation : une augmentation de densité peut expliquer le phénomène. Les mouvements d'oscillation et de déplacement des globulins intacts me paraissent liés à l'inté-

grité même de ces éléments ; ils se différencient par un certain nombre de caractères des mouvements browniens et il est possible qu'ils soient dus aux échanges du globulin avec le milieu avoisinant, échanges s'effectuant sur une très grande surface par rapport à une très petite masse ; mais ce n'est là qu'une hypothèse.

CONCLUSIONS

L'étude critique des travaux consacrés au globulin depuis Donné (1844) permet de les diviser en deux groupes : 1° les constatations sur le vivant de Bizzozero, Eberth et Schimmelbusch, Laker qui aboutissent à des résultats concordants ; 2° les constatations faites en dehors de l'organisme, qui ne concordent pas entre elles ou sont en contradiction avec les faits observés *in vivo*.

Une technique d'examen extrêmement simple permet d'observer le globulin avec les mêmes résultats *in vitro* et *in vivo* : cette technique est tout entière contenue dans la proposition suivante, fournie par l'expérience,et qui résume, à mon avis, toute la question du troisième élément du sang : le sang doit être recueilli à l'abri du contact des tissus. Au point de vue pratique, le sang sera recueilli, avec toutes les précautions indiquées, dans un gros vaisseau. On éliminera le contact du verre qui active la coagulation, la mort du sang. En procédant ainsi, sans addition d'aucune substance étrangère, on peut avec la plus grande facilité sur l'âne et sur le chien étudier la morphologie du globulin et ses modifications sous l'influence des variations thermiques.

L'emploi de certains anti-coagulants permet d'étendre la durée des observations : les anti-coagulants tels que les citrates et oxalates alcalins agissent en protégeant les globulins contre les substances empruntées aux tissus au moment de la saignée.

Les globulins ont un type morphologique constant dans la série des mammifères. A une température de 38°, et dans les conditions indiquées (chapitres II, III et IV), ils se présentent sous une forme allongée, en bâtonnet, avec des mouvements propres. Sous l'influence du temps, des variations de température extra-physiologique, ils présentent des variations morphologiques qui ont les caractères de lésions dégénératives. Il en est de même avec un certain nombre de poisons protoplasmiques.

Le rouge neutre colore des vacuoles à l'intérieur des globulins et cette coloration a tous les caractères d'une coloration vitale.

Les réactions histologiques montrent que le globulin a une structure complexe : chez tous les mammifères examinés, on peut mettre en évidence une substance diffuse, dont les réactions colorantes (affinité pour le rouge de méthylène) se rapprochent de celles de la chromatine. Il n'y a pas de noyau au sens étroit du mot.

Il est impossible d'établir un rapprochement ou une filiation entre le globulin et les autres éléments du sang.

La numération des globulins est facile à réaliser sur du sang non souillé par les tissus, et donne des résultats aussi fixes que pour les globules rouges ou les globules blancs. Le nombre des globulins varie suivant l'espèce envisagée, l'âge, l'alimentation : il est susceptible de variations très étendues à l'état pathologique.

In vitro, les globulins sont susceptibles d'être agglutinés par un certain nombre de substances colloïdales. Leur agglutinabilité varie suivant les espèces animales : chez une même espèce, il est possible de produire des variations expérimentales ; elle est augmentée chez les chiens séro-anaphylactisés.

Les substances colloïdales qui agglutinent les globulins du chien *in vitro* les font disparaître temporairement de la circulation lorsqu'on les injecte dans les veines ; chez le chien séro-anaphylactisé, il est possible de produire cette disparition avec des doses de sérum inefficaces chez l'animal neuf.

On peut admettre qu'il existe en moyenne chez les mammifères 500.000 globulins par millimètre cube : à l'heure actuelle, nous ne savons absolument rien sur leur rôle physiologique.

Vu :
Le Président de la thèse,
LANNELONGUE.

Vu :
Le Doyen,
LANDOUZY.

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

BIBLIOGRAPHIE

Abderhalden (E.) und Deetjen (H.). — Weitere Studien über den Abbau einiger Polypeptide durch die roten Blutkörperchen und die Blutplättchen des Pferdeblutes. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, Bd. 53, 1907.

Achard (Ch.) et Aynaud (M.). — Sur l'observation directe des hématoblastes dans le plasma sanguin. *C. R. Soc. Biologie*, 7 déc. 1907, p. 593,

— Sur les hématoblastes des vertébrés ovipares. *Ibid.*, 14 décembre 1907, p. 654.

— Forme et mouvements des globulins du sang. *Ibid.*, 29 février 1907. p. 341.

— Nouvelles recherches sur les globulins. *Ibid.*, 2 mai 1908, p. 714.

— Action des anti-coagulants sur les globulins. *Ibid.*, 23 mai 1908, p. 898.

— Réduction du bleu de méthylène par les globulins. *Ibid.*, 11 juillet 1908, p. 57.

— Action de la gélatine sur les globulins. *Ibid.*, 24 octobre 1908, p. 332.

— Coloration vitale des globulins par le rouge neutre. *Ibid.*, 14 novembre 1908, p. 442.

— La survie des globulins hors de l'organisme. *Ibid.*, 21 novembre 1908, p. 459.

— Action comparée de la peptone *in vivo* et *in vitro*. *Ibid.*, 5 décembre 1908, p. 554.

— Sur le phénomène de la disparition des globulins. C. *R. Société Biologie*, 26 décembre 1908, p. 724.

— Indépendance des globulins par rapport aux globules rouges et blancs du sang. *Archives des maladies du cœur, des vaisseaux et du sang*, t. II, n° 3, 1909, p. 129.

— Le globulin. *Semaine Médicale*, 14 avril 1909, p. 169.

— Les globulins dans l'anaphylaxie, *C. R. Société Biologie*, 10 juillet 1909.

— Les globulins dans les infections par les protozoaires. *Ibid.*, 17 juillet 1909.

Acquisto. — Contributo sperimentale e considerazioni sul valore delle pias-

trine nella coagulazione del sangue. *Archivio per le Scienze Mediche*, XIX, 1895.

Afanasiew. — Ueber den dritten Formbestandheil des Blutes. *Deut. Arch. fur klin. Med.*, XXXV, 1884.

Argutinsky. — Zur Kenntniss der Blutplättchen. *Anatomischer Anzeiger*, Bd. XIX.

Arnold. — Die corpusulären Gebilde der Froschblutes. *Virchow's Archiv*, Bd. 148.

— Zur Morphologie der extra-vasculären Gerinnung. *Ibid.*, Bd. 150.

— Zur Morphologie der intra-vasculären Gerinnung. *Ibid.*, Bd. 155.

— Ueber die Herkunft von Blutplättchen, et Nachträgliche Bemerkungen zur Technik der Blutuntersuchung. *Centralblatt für allgemeine Pathologie*, Bd. VIII, 1898.

Arthus (M.) et Chapiro (Th.) — Recherches sur la rétraction du caillot. *Arch. Int. Physiologie*, t. VI, n° 3, p. 298, 30 mai 1908.

Aschoff. — Ueber den Aufbau der menschlichen Thromben. *Virchow's Archiv*, Bd. 130, 1892.

Aubertin (Ch.). — Rétraction du caillot et hématoblastes dans les anémies. *C. R. Soc. Biologie*, 1905.

— *Réactions sanguines dans les anémies graves*. Th. Paris, 1905.

Barreau (E.). — Ueber die Wirkung von Blutplättchenstoffen gegen Milzbranderreger. *Archiv für Hygiene*, 1909, Bd. 70, H. 4.

Batteli et Mioni. — Leucopénie et leucocytose par injection de sang hétérogène chez le chien. *C. R. Soc. Biologie*, t. I, p. 760. 1904.

Bettelheim. — *Centralblatt für med. Wissenschaften*, 1868, p. 345.

Bezançon (F.) et Labbé (M.). — *Traité d'hématologie*. Paris, G. Steinheil, 1904.

Biedl (A.) und Kraus (R.). — Experimentelle Studien über Anaphylaxie. *Wien. klin. Wochensch.*, 18 mars 1909, p. 363.

Biffi (H.). — Alcune osservazioni sul sangue del lama. *Archivio di Fisiologia*, t. III, 1906.

Bizzozero (G.). — D'un nouvel élément morphologique du sang et de son importance dans la coagulation et la thrombose. *Virchow's Archiv*, Bd. 90, p. 261, 1882, et *Arch. Ital. Biologie*, t. 2 et 3.

— Die Blutplättchen in peptonisirten Blute. *Centralblatt für die med. Wissenschaften*, 1883.

— Sur les plaquettes du sang des mammifères. *Arch. Ital. Biologie*, t. XVI, 1891.

Boehm (G.). — Die Bedeutung der durch Hetol (zimtsaures Natron) her vorgerufenen Hyperleucocytose, etc. *Archiv für Hygiene*, 1907, Bd. 62.

Bremer (L.). — Ueber den Paranuclearkörperchen der gekernten Erythrocyten. *Arch. für mikr. Anatomie*, Bd. 45, 1895.

— Ueber die Herkunft und Bedeutung der Blutplättchen. *Centralblatt für die mediz. Wissenchaften*, Bd. 22, 1894.

Brockbank (E. M.). — Blood Plates. *Med. Chronicle*, 1907-08, p. 462.

Brodie and Russel. — The enumeration of blood-platelets. *Jal. of Physiology*, Vol. XXI, 1897.

Buckmaster. — *The morphology of normal and pathological blood.* London, 1906.

Burker. — Une méthode simple pour l'observation des plaquettes, *Centralblatt für Physiologie*, Bd. 17, 1903.

— Blutplättchen und Blutgerinnung. *Pflüger's Arch.*, Bd. 102, 1904 et *Centralblatt für Physiologie*, Bd. 21, 1907.

Buttersack. — Ueber Capillarthromben. *Zeitschr. für kl. Med.*, Bd. 33, 1897.

Cadet. — *Etude physiologique des éléments figurés, en particulier des hématoblastes,* Thèse Paris, 1881.

Cadwalader (W. B.). — A comparative study of the methods of counting blood platelets. *Bulletin of the Ayer clinical laboratory*, n° 3, 1906.

Cantacuzène. — Sur les variations qualitatives et quantitatives des globules rouges provoqués chez le lapin par injection de sérum hémolytique. *Annales Institut Pasteur*, 1900.

Carrière et Vanverts. — Modifications histologiques du sang après ligature expérimentale des vaisseaux spléniques. *C. R. Soc. Biologie*, 1900, p. 1134.

Castronuovo et Spirito. — Sul valore e sulla genese delle piastrine. *Giorn. Intern. delle Sc. Med.*, 1908.

Cesaris Demel (A.). — Alcune osservazioni sulle piastrine del sangue. *Lo Sperimentale*, 1894, t. 59, p. 606.

Chevrel et Bourdinière. — Isolement des hématoblastes. Action du sérum hémolytique sur les hématoblastes *in vitro*. 47e *Congrès des Sociétés savantes*. Rennes, 1909.

Chevrel et Roger. — Isolement des hématoblastes. Production d'un sérum anti-hématoblastique. *C. R. Soc. Biologie*, 23 novembre 1907.

Cole (R. I.).— Note on the production of an agglutinating serum for blood platelets. *Johns Hopkins Hospital Bulletin*. June-July 1907, p. 261.

Courmont (J.) et André (Ch.). — Culture *in vitro* des globulins. *Lyon médical*, 1908, p. 1355 et *C. R. Soc. Biologie*, 1908, t. I, p. 805.

Czermack. — Einige Ergebnisse über die Entwickelung der Lymph-Knötchen der Darmvand. *Arch. für mikrosk. Anatomie*, Bd. 42, 1893.

Deckhuysen. — Ueber die Thrombocyten. *Anatomischer Anzeiger*, 1901, Bd. XIX.

Deetjen. — Untersuchungen über das Blut. *Virchow's Archiv*, Bd. 164, 1901.

Denys. — Étude sur la coagulation du sang. *La Cellule*, t. III, 1887.

— Un nouveau cas de purpura avec diminution considérable des plaquettes. *Ibid.*, V, 1889.

Determann. — Klinische Untersuchungen über Blutplättchen. *Deut. Arch. für klin. Med.*, Bd. 61, 1898.

Dominici (H.). — Tuberculose latente. Splénectomie. *C. R. Soc. Biologie*, 1898, p. 1193.

— Sur l'histologie de la rate normale. *Arch. Méd. exp.*, 1900.

— Sur l'histologie de la rate au cours des états infectieux. *Ibid.*

— Histologie de la rate à l'état normal et pathologique, *Ibid.*, 1901.

— Sang et moelle osseuse, in *Manuel d'histologie pathologique de* Cornil *et* Ranvier, 1902.

Donné. — *Cours de microscopie*, 1844 et *C. R. Acad. des Sciences.* t. XIV, p. 366, 1842.

Dorendorf. — *Gesellschaft der Charité Aerzte*, 31 octobre 1901.

Ducceschi. — Sur une modification macroscopique du sang qui précède la coagulation. *Arch. Ital. Biologie*, XXXIX, 1903.

Eberth und Schimmelbusch. — Experimentelle Untersuchungen über Thrombose. *Fortschritte der Medicin*, Bd. III, 1885, p. 379.

— Ueber die Entstehung von Thrombose. *Virchow's Archiv*, Bd. 102.

— *Die Thrombose.* Stuttgard, 1888.

Ehrlich und Lazarus.— *Die Anaemie* in *Spec. Path. u. Therapie von Nothnagel*, Bd. VIII.

Eisen. — On the Blood — Plates of the human Blood. *Jal of Morphology.* Bd. XV, 1898-99.

Emden (Van). — Klinische Untersuchungen über die Blutplättchen. *Fortschritte der Medicin*, Bd. 16, 1898.

Engel (C. S.). — Zur Entstehung der körperlichen Elemente des Blutes. *Arch. für mikrosk. Anat.*, Bd. 42, 1893.

— *Leitfaden zur klinischen Untersuchung des Blutes.* Berlin, 1906.

Feiertag (H.). — *Beobachtungen über die sogenannten Blutplättchen*, Th. Dorpat, 1883.

Feldbausch. — Der Einfluss verschiedenen Stoffe auf die roten Blutkörperchen. *Virchow's Archiv*, Bd. 155.

Foa (P.). — Sur les plaquettes du sang. *Arch. Ital. Biol.*, XXXIII, 1900 et Observations in *Lo Sperimentale*, t. LIX, p. 606.

— Contributo alla conoscenza degli elementi costitutivi della pulpa splenica. *Archivio per le Sc. Med.*, t. XXX, 1906.

Foa et Carbone. — Sur la question de la thrombose. *Arch. Ital. Biologie*, X, 1888.

Fusari. — Contributo allo studio delle piastrine del sangue allo stato normale e patologico. *Archivio per le Sc. Med.*, t. X, 1886.

Gabritschewsky. — Klinische Haemotologischen Notizen. *Arch. für experimentelle Pathologie*, Bd. 28, 1891.

Gibson (J. L.). — The blood forming organs and blood formation. *Jal. of Anatomy and Physiology*, XX, 1885-86.

Giglio-Tos (E.). — Les thrombocytes des Ichthyopsidés et des Sauropsidés. *Arch. Ital. Biologie*, t. XXIX, 1898.

— I Plasmociti di Eisen. *Anatomischer Anzeiger*, Bd. 14, 1898.

Giudiceandrea. — Che cosa sono le piastrine ? *Policlinico* (*Sez. Pratica*), 1906.

Gravitz (E.). — *Klinische Pathologie des Blutes*, Berlin, 1906.

Gruber (M.) und Futaki (K.). — Ueber die Resistenz gegen Milzbrand und über die Herkunft der milzbrandfeindlichen Stoffe. *Münchener medizin. Wochensch.* n° 6, 1907.

— Weitere Mitteilungen über die Resistenz gegen Milzbrand. *Deutsche medic. Wochensch.*, 1907, n° 39.

Halla (A.). — Ueber quantitative Verhältnisse der Blutkörperchen bei acuten fieberhaften Krankheiten. *Zeitsch. für Heilkunde*, Bd. 4, 1883.

Haycraft and Carbin. — Morphological changer that occur in the human blood during coagulation *Jal. of. Anatomy and Physiology*, Vol. 22,1887-88.

Hayem. — Recherches sur l'évolution des hématies dans le sang de l'homme et des vertébrés. *Arch. de physiologie*, 1878-79.

— *Le sang*, 1889.

— *Leçons sur les maladie du sang*, 1900.

Helber. — Ueber die Zählung der Blutplättchen. *Deut. Arch. für klin. Med.*, Bd. 81, 1905.

— Ueber die Entstehung der Bluttplättchen. *Ibid.*, Bd. 82, 1905.

Hirschfeld (H.). — Ueber die Entstehung der Blutplättchen, *Virchow's Archiv*, Bd. 166, 1901.

— Zur Blutplättchenfrage, *Anatomischer Anzeiger*, Bd. XX.

Hlava. — Zur Histogenese des Fibrins. *Fortschritte der Med.*, Bd. I, 1883.

Howell. — Blood corpuscles. *Jal. of Morphology*, IV, 1890-91.

Huber (F. O.). — Ueber Formalingasfixirung und Eosin-Methylenblaufärbung von Blutpraeparaten. *Charité Annalen*, Bd. 27, 1902.

Jolly (J.). — Réparation du sang dans un cas d'anémie aiguë. *Arch. méd. exp.*, 1901.

— Recherches sur la formation des globules rouges des mammifères. *Arch. d'anat. microsc.*, IX, 1907, p. 133.

— Sur quelques points de la morphologie du sang étudiés par l'observation de la circulation dans l'aile de la chauve-souris. *Ibid.*, XI, 1909, p. 94.

Kemp et Calhoun. — (V^e^ Congrès international de Physiologie, Turin, 1901). La numération des plaquettes du sang et la relation des plaquettes et des leucocytes avec la coagulation (*C. R. in Archives Ital. Biologie*, 1901, Bd. XXXVI, fasc. 1, p. 82).

— Some new observations an blood-plates and leucocytes. *American journal of Physiology*, 1901.

Kemp, Harris and Calhoun. — Some observations on the microchemistry of the blood plates. *British med. Journal*, 22 décembre 1906.

— The Blood plates. Their numeration in physiology and pathology. *The Journal of the Amer. Med. Ass.*, Vol. XLVI, 1906.

Kopsch (Fr.). — Die Thrombocyten des Menschenblutes. *Anatomischer Anzeiger*, Bd. 19, 1901.

— Ueber den Kern der Thrombocyten. *Internationale Monatschrift für Anatomie und Physiologie*, Bd. XXI, 1904

Laker (C.). — Die Blutscheibchen sind constante Formelemente des normal circulirenden Säugethierblutes. *Virchow's Archiv.*, Bd. 116, 1889.

Laguesse. — Le 3e élément du sang ou thrombocyte. *Echo médical du Nord*, 23 octobre 1904.

Laptschinsky. — Zur Pathologie des Blutes. *Centralblatt. für med. Wissenschaften*, 1873.

Ladovsky. — Blut und Iodsaure. *Zeitschr. fur wissensch. Mikroskopie*, Bd. 10, 1893.

Le Sourd (L.) et Pagniez (Ph.). — Un procédé d'isolement à l'état de pureté des hématoblastes du sang. *C. R. de l'Acad. des sc.*, 25 juin 1906.

— Du rôle des hématoblastes dans la rétraction du caillot. Recherches expérimentales. *C. R. Soc. Biol.*, 21 juillet 1906.

— L'irrétractilité du caillot et sa production expérimentale par action directe sur les hématoblastes. *C. R. Soc. Biol.*, 8 décembre 1906.

— Contribution à la question de l'origine des hématoblastes. *C. R. Soc. Biol.*, 30 novembre 1907.

— Recherches expérimentales sur le rôle des hématoblastes dans la coagulation. *C. R. Soc. Biol.*, 25 mai 1907.

— La rétraction du caillot sanguin et les hématoblastes. *Journ. de physiol. et de pathol. génér.*, juillet 1907.

— Nouvelles recherches sur le rôle des plaquettes dans la rétraction du caillot sanguin. *C. R. Soc. Biol.*, 7 novembre 1908.

— Nouvelles recherches sur le rôle des hématoblastes ou plaquettes sanguines dans la coagulation. *C. R. Soc. Biol.*, 30 mai 1908.

— Recherches sur le rôle des plaquettes sanguines ou hématoblastes dans la coagulation du sang. *Journ. de physiol. et pathol. génér.*, janvier 1909.

Leube (W. O.). — Ein Fall von essentielle Anaemie mit übermässiger Entwickelung der « Körnchenbildungen » im Blute. *Berliner kl. Wochenschr.*, 1879.

Levaditi. — Un cas de leucémie myélogène. *Journal de Physiologie et Pathologie générale*, 1901.

Lilienfeld. — Hæmatologische Untersuchungen, *Arch. für Physiologie*, 1892.

Loeb (L.). — Ueber eine Methode Blutplättchen in grosser Menge rein zu verhalten. *Centralblatt für Physiologie*, XVII, 1903.

— Ueber die Bedeutung der Blutkörperchen für die Blutgerinnung. *Virchow's Arch.*, Bd. 173, 1903.

— Versuche über einige Bedeugungen der Blutgerinnung *Ibid.*, Bd. 176, 1903.

— On the spontaneous agglutination of blood cells of Arthropods. *University of Pennsylv. Med. Bul.*, 1904.

— Vergleichende Untersuchungen über die Thrombose. *Virchow's Arch.*, Bd. 185, 1906.

— Ueber die Koagulation des Blutes einiger Arthropoden. *Hofmeister's Beiträge*, V, 1904.

— Weitere Untersuchungen üter die Blutgerinnung, *Ibid.*, VI et VIII.

Lœwit. — Die Blutplättchen und die Blutgerinnung. *Fortschritte der Medizin*, Bd. III, 1885, p. 173 et 276.

— Die Beobachtung der Circulation beim Warmblüter. *Archiv für experimentelle Pathologie*, 1887, Bd. 23.

— Ueber die Praeexistenz der Blutplättchen. *Virchow's Archiv*, Bd. 117, 1889.

— Ueber die Blutplättchen. *Ergebnisse der allgemeine Pathologie*, Bd. II, 1897.

— Ueber die Membran und die Innenkörper der Säugethiererythrocyten. *Ziegler's Beiträge*, Bd. 42, 1907.

Luzet (Ch.). — *Étude sur les anémies de la première enfance*. Th. Paris, 1891.

— Étude sur la régénération du sang après saignée chez les oiseaux (l'érythrocyte et l'hématoblaste. *Arch. de Physiologie*, 1891.

Malassez. — Remarques sur la coagulation du sang. *C. R. Soc. Biologie*, 1896, p. 597.

Marino. — Coloration des protozoaires et considérations sur la neutrophilie. *Ann. Inst. Pasteur*, 1904, p. 191.

— Recherches sur les plaquettes du sang. *C. R. Soc. Biologie*, 1905, t. I, p. 194.

Maurel. — Origine et évolution des éléments figurés du sang chez l'adulte. *A. F. A. S.*, 1893.

— Action de l'eau distillée sur les éléments du sang. *C. R. Soc. Biologie*, 1896.

Maximow (A.). — Ueber die Structur und Entkernung der roten Blutkörperchen der Säugethiere und über die Herkunft der Blutplättchen. *Arch. für Anatomie*, 1899, p. 33

Menetrier (P.) et **Aubertin** (Ch.). — *La leucémie myéloïde*, Paris, 1906.

Mondino et Sala. — La production des plaquettes dans le sang des vertébrés ovipares. *Arch. Ital. Biologie*, t. XII, 1889.

Moravitz. — Beiträge zur Kenntniss der Blutgerinnung. *Deut. Arch. für kl. Med.*, Bd. 79, 1904.

— Die Chemie der Blutgerinnung. *Ergebnisse der Physiologie*. Bd. 4.

Mosen. — Die Herstellung wagbaren Mengen von Blutplättchen. *Arch. für Physiologie*, 1893.

Mosso (A.). — Die Umwandlung der rothen Blutkörperchen in Leukocyten. *Virchow's Archiv*, Bd. 109, 1887.

Muir. — Contribution on the physiology and pathology of the blood. *Jal of anatomy and physiology*, Vol. XXV, 1891.

Muller (Fr.). — Die morphologischen Veränderungen der Blutkörperchen und des Fibrins bei der vitalen extravasculären Gerinnung. *Ziegler's Beiträge*, Bd. XXIII, 1898.

Nattan-Larrier (L.). — Sur quelques caractères morphologiques des hématoblastes. *C. R. Soc. Biologie*, 1907, n° 37.

Nedsvetzki. — Bewegliche Körperchen des Menchenblutes. *Centralblatt für med. Wissenschaften*, 1873.

Neumann (L.). — Blutregeneration und Blutbildung. *Zeitsch. für klin. Med.* Bd. 3, 1881.

Osler (W.). — On account of certain organismus. *Proceedings of the Royal Society of London*, 1874, p. 391.

— Ueber den dritten Formbestandheil des Blutes. *Centralblatt für die med. Wissenschaften*, 1882.

Ottolenghi (D.). — Die Blutplättchen als Alexinerzeuger. *Münch. mediz. Wochensch.*, n° 17, 23 avril 1907.

— Bemerkungen zum Artikel., etc. *Centralblatt für Bakteriologie. Originale. I. Abt.*, t. 49, 1909.

Pagniez (Ph.). — Aperçu sur l'état actuel de la question des plaquettes sanguines. *Archives des maladies du cœur, des vaisseaux et du sang*, II, 1909, p. 1.

Pappenheim (A.). — Remarque in *Biologische Abtheilung des ärtzlichen Vereins*, Hamburg, 1901.

— Farberische zur Kenntniss des sog. Chromatinkern von Protisten. *Berl. kl. Wochensch.*, 24 novembre 1902.

— Einige Bemerkungen über Methoden und Ergebnisse der sog. Vitalfärbung an den Erythrocyten. *Folia Hæmatologica*, 1907, IV, Suppl.

Patella (V.). — *La genesi endoteliale dei leucociti mononucleati del sangue*, Siéna, 1907.

Petrone (A.). —Sulla coagulazione del sangue. *Il Morgagni*, 1897.

— Sur le sang. *Archives Italiennes de Biologie*, 1901. Vol. XXXVI, p. 365.

Pizzini (L.). — Modificazioni fisiopatologiche delle pisatrine del sangue specialmente in rapporto congli aumanti di temperatura. *Riforma Medica*, 1894.

Pol (R.). — *Studien zur pathologischen Morphologie der Erythrocyten inbesondere bei der Schwefelkohlenstoff und Phenhylhydrazinvergiftung.* Th. Heidelberg, 1905.

Poljakoff. — Biologie der Zelle. *Arch. für Anatomie*, 1901.

Pouchet (G.). — Note sur la régénération des hématies des mammifères. *C. R. Soc. Biologie*, 1878, p. 37 et 77, 1879, p. 92 et 76.

Pratt. — Beobachtungen über die Gerinnungszeit und die Blutplättchen, *Arch. für experimentelle Path.*, Bd. 49, 1903.

— A critical of the various methods employed for enumerating of blood platelets. *Journ. Amer. Med. Ass.*, 1905, 2.

Prenant, Maillard et Bouin. — *Traité d'histologie*, 1904.

Preisich und Heim. — Ueber die Abstammung der Blutplättchen. *Virchow's Archiv*, Bd. 178, 1904.

— Durch Färbung lebhaft differenzirten Blutplättchen. *Deut. med. Woch.*, 1903.

Puchberger. — Bemerkungen zur vitalen Färbung der Blutplättchen des Menschen mit Brillantkresylblau. *Virchow's Archiv*, Bd. 171, 1902.

Rabl (L.). — Ueber eine elective Färbung der Blutplättchen in Trockenpraeparaten. *Wien. kl. Woch.*, 1896, p. 1060.

Ranvier (L.). — Du mode de formation de la fibrine dans le sang extrait des vaisseaux. *C. R. Soc. Biologie*, 1873 et *Traité technique*, 1889.

Rebaudi. — Le piastrine del sangue durante la gravidanza, il puerperio, etc. *Arch. Ital. di ginecologia*, Vol. X, 2, 1907.

Renaut. — *Traité d'Histologie pratique*, 1889.

— Contribution à l'étude de la phlegmatia alba dolens. *Revue mensuelle de Médecine et Chirurgie*, 1886.

Retterer. — Des hématies des mammifères. *Journal de l'Anatomie*, 1906-1907

Richardson (J.). — Effect of severe hemorrhage on the number of blood plates. *Jal. of Med. Research.*, XIII, 1904.

Riess (L.). — Zur pathologischen Anatomie des Blutes. *Arch. für Anatomie*, 1872.

— Ueber sogennante Micrococcen. *Centralbl. für die medic. Wissenschaften*, 1873.

— Bemerkungen über die Zerfallskörperchen und ihr Verhaltniss zur Anæmie. *Berl. kl. Wochenschr.*, 1879.

— Ueber die Beziehungen der Spindelzellen. *Arch. für experimentelle Path.*, 1904.

Robin. — *Leçons sur les humeurs*, 1874.

Rosin et Bibergeil. — Ueber vitale Blutfärbung. *Zeitschr. für kl. Med.*, Bd. 54, 1904.

Ross (H. C.). — The vacuolation of the blood Platelets : an experimental proof of their cellular nature. *The Lancet*, 4 septembre 1909.

Rowley (M. W.). — Note on the morphology of Blood-Plates. *Jal of the Am. Med. Association*, 1906.

Sacerdotti (C.). — Intorno alle piastrine del sangue. *Archivio per le Sc. Mediche*, Vol. XVII, 1893.

— Sulle piastrine del sangsue dei mammiferi. *Ibid*, Vol. XXV, 1901.

— Globules rouges et plaquettes. *Arch. Ital. Biologie*, Vol. XXXIII, 1900.

— Le piastrine dei mammiferi e il siero antipiastrinico. *Archivio par le Scienze Mediche*, Vol. XXXII, 1908, 3 et 4, p. 339 405.

Salvioli (I.). — Sulle cause della morte per scottatura. *Archivio per le Sc. Mediche*. XV, 1891.

Samele. — Cosa sono propriamante le piastrine. *Clinica Medica Ital.*, 1906

Scherer (E.). — Ueber Zooid und Okoibildung in der rothen Blutkörperchen. *Zeitsch. für Heilkunde*, Bd. XVII. 1896.

Schimmelbusch (C.). — Die Blutplättchen und die Blutgerinnung., *Fortschritte der Medicin*. Bd. III, 1885, p 97 et 202 et *Virchow's Archiv*, Bd. 101.

— *Ueber Thrombose in Gerinnungsunfähigen Blute*. Th. Halle, 1886.

Schmidt. — Recherches sur le rôle physiologique et pathologique des leucocytes du sang. *Arch. de Physiologie*, 1882.

Schneider (Paul). — Beitrag zur Frage der Blutplättchengenese. *Virchow's Archiv*, Bd. 174, 1903.

Schultze (M.). — Ein heizbarer Objecttisch. etc., *Arch. für mikrosk. Anatomie*, Bd. I, 1865.

Schwalbe (E.). — Dis Morphologie des Thrombus und die Blutplättchen. *Ziegler's Beiträge*, *VII. Supplement Arnold's Festschrift* et *Ergebnisse der allgemeine Pathologie*, VIII, 1902.

— Zur Blutplättchenfrage. *Anatomischer Anzeiger*, XX, 1901.

Schwalbe (E.) et **Solley**. — Die morphologischen Veranderungen der Blutkörperchen, speciell der Erythocyten bei der Toluylendiamin Vergiftung. *Virchow's Archiv*. Bd. 168.

Sewastianoff. — Die phagocyphäre Tätigkeit der roten Blutkörperchen und der Blutplättchen. *Wiener klinische Rundschau*, nos 26, 29, 1909.

Slevogt. — *Ueber die im Blute der Säugethiere Vorkommenden Körnchenbildungen*. Th. Dorpat, 1883.

Spadaro. — Le piastrine e la loro derivazione dei globuli rossi. *Policlinico* (*Sez. Medica*), 1907.

Tschitowitsch. — Ueber die Blutplättchen bei acuten Infectionkrankheiten. *Folia hæmatologica*, 1907.

Türck (W.). — *Klinische Untersuchungen über das Verhalten des Blutes bei acuten Infectionkrankheiten*. Wien, 1898.

Vallet (G.). — Note sur procédé simple de coloration des plaquettes du sang. *C. R. Soc. Biologie*, 1906.

— Sur la numération des hématoblastes. *Ibid.*, 1907.

Vaquez (H.). — Des coagulations sanguines intra-vasculaires. *Congrès de médecine*, Nancy, 1896.

Vassale (G.). — Sul significato fisiologico delle piastrine del sangue. *Memorie della R. Accademia di Scienze, Lettere, ed arte*. Série III, vol. IV. *Sezione di Sciencc*. Modena, 1901.

Walther (A.). — Zwei Beiträge zur Kenntniss des Pferdeblutes. *Archiv für die gesammte Physiologie*, CXXIII, 1908.

Weidenreich (Fr.). — Studien über das Blut. *Archiv für mikrosk. Anatomie*, Bd. 69, 1907.

— Das Schicksal der roten Blutkörperchen in normalen Organismus. *Anatomischer Anzeiger*, Bd. 24, 1903.

— Die roten Blutkörperchen. *Ergebnisse der Anatomie*, Bd. 13 et 14, 1903-1904.

— Zur Morphologie der Blutplättchen. *Verhandlung der Anat. Gesellschaft*. Rostock, 1906.

Welti (**E.**). — *Ueber die Todesursachen nach Hautverbrennungen*, Th. de Zurich. 1889.

Wlassov.— Histologische Vorgänge bei der Gerinnung und die Thrombose. *Ziegler's Beitrage*, Bd. XV, 1894.

Wlassov und Sepp.— Ueber den Kern und die amoeboide Bewegung der Blutplättchen. *Centralblatt fur allgemeine Path.*, 1902.

Wooldrige (**L.**). — *Die Gerinnung des Blutes*, Leipzig, 1891.

Wright (**J. H.**). — The origine and nature of the blood-plates. *Boston Med. and Surgical Journal*, 1906, CLIV.

— Die Enstehung der Blutplättchen. *Virchow's Archiv*, Bd. 186, 1906.

Zeri et **Almalgia**. — Sull' agglutinazione delle piastrine nelle malattie febbrile. *Policlino. Sez. Pratica*, 1903.

Zimmermann. — Ueber die Formgebilde des menschlichen Bentus. *Rust's Magazin für die gesammte Heilkunde*, Bd. 66, 1846.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION VII

CHAPITRE PREMIER. — **Historique** 1

CHAPITRE II. — **Observation du globulin** 28

§ 1. — Chez le vivant 28
§ 2. — En dehors de l'organisme 32

CHAPITRE III. — **Action des différents anti-coagulants in vitro sur les globulins** 34

CHAPITRE IV. — **Survie des globulins en dehors de l'organisme. Influence de la durée, de la température, de la concentration moléculaire, de la dilution.** 55

CHAPITRE V. — **Modifications morphologiques des globulins sous l'influence des agents chimiques** 65

CHAPITRE VI. — **Agglutination des globulins** 74

§ 1. — Agglutination des globulins en général. 74
§ 2. — Agglutination par les tissus et quelques liquides de l'organisme 88
§ 3. — Agglutination suivant les espèces animales 95

CHAPITRE VII. — **Coloration vitale des globulins** 99

CHAPITRE VIII. — **Etude histologique du globulin.** 114

§ 1. — Réactions tinctoriales 114
§ 2. — Action des différents fixateurs et procédés de fixation . 117

CHAPITRE IX. — **Le phénomène de la disparition temporaire du globulin chez le chien.** 123

§ 1. — Stabilité du globulin dans quelques conditions expérimentales. 124

§ 2. — Disparition des globulins après injection de peptone . . 128
§ 3. — Disparition des globulins après injection de substances les agglutinant « in vitro » 135
§ 4. — Effet des injections de peptone chez le chat et le mouton. 147

CHAPITRE X. — **Action des sérums hétérogènes sur les globulins**. 148

§ 1. — In vitro 149
§ 2. — In vivo 155

CHAPITRE XI. — **Les globulins au cours de la séro-anaphylaxie sérique chez le chien**. 158

CHAPITRE XII. — **Numération des globulins**. 163

CHAPITRE XIII. — **Globulins et coagulation** 181

CHAPITRE XIV. — **Le problème de l'origine du globulin** 194

§ 1. — Les globulins dans les liquides de l'organisme autres que le sang 194
§ 2. — Les globulins dans les organes hématopoiétiques. Leur présence dans la rate. Influence de la splénectomie . 197
§ 3. — Discussion des théories qui font dériver le globulin du globule rouge ou du globule blanc. Discussion de la théorie hématoblastique 199
§ 4. — Le globulin pendant la vie embryonnaire. 207

CHAPITRE XV. — **Considérations générales sur la structure et la morphologie du globulin**. 210

Conclusions 219

Bibliographie 221

Imp. J. Thevenot, Saint-Dizier (Haute-Marne).

372

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE